UNIVERSITÉ DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1930—1931 N° 66

CONTRIBUTION

à l'Etude chimique de la Rate

Thèse

présentée et soutenue publiquement le Juin 1931
à la FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

WYLER Hans
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse :

MM. E. LABORDE, Professeur, Président
F. JADIN, Professeur } Juges
E. LOBSTEIN, Professeur }

IMPRIMERIE Ch. ROCH, STRASBOURG
1931

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548012_0009

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG — FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1930—1931 — N° 66

CONTRIBUTION

à l'Etude chimique de la Rate

Thèse

présentée et soutenue publiquement le Juin 1931
à la FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

WYLER Hans
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse :

MM. E. LABORDE, Professeur, Président
F. JADIN, Professeur
E. LOBSTEIN, Professeur
} Juges

IMPRIMERIE Ch. ROCH, STRASBOURG
1931

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. JADIN, *Doyen*, O. ✻, I. ☤ ⚕.
A. SARTORY, *Assesseur*, C. ✻, I. ☤, O. ⚕.
CUVIER, *Secrétaire*.

PROFESSEURS

JADIN, O. ✻, I. ☤, ⚕	Pharmacie chimique
A. SARTORY, C. ✻, I. ☤, O. ⚕ ..	Bactériologie
LAVIALLE, I. ☤, ⚕	Botanique
LABORDE, ✻ I. ☤	Chimie organique.
VOLMAR, I. ☤	Analyse chimique
LOBSTEIN, ✻, I. ☤, ⚕	Matière médicale
GUILLAUME, ✻, ☤, ⚕	Pharmacie galénique

PROFESSEUR HONORAIRE

BRÆMER, ✻, I. ☤, O. ⚕

COURS COMPLÉMENTAIRES

LABORDE, ✻, I. ☤	Chimie biologique
GUILLAUME, ✻, ☤, ⚕	Zoologie
VOLMAR, I. ☤	Chimie minérale
LOBSTEIN, ✻, I. ☤, ⚕	Hydrologie et Hygiène
BRÆMER, ✻, I. ☤, O. ⚕	Législation et Déontologie
LAPP, A. ☤	Physique
COLLARD, I. ☤, ⚕	Toxicologie
R. SARTORY	Cryptogamie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

LAPP, A. ☤	Chimie pharmaceutique
COLLARD, I. ☤, ⚕	Chimie et Physique
BOHN	Histoire naturelle
R. SARTORY	Bactériologie et Parasitologie

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A MA MÈRE
ET A MON PÈRE

En gage de ma plus vive affection.

A mon Président de Thèse

Monsieur le Professeur LABORDE

Chevalier de la Légion d'Honneur

Hommage de très vive gratitude
et de profond dévouement.

AVANT-PROPOS.

Les nombreux physiologistes et chimistes qui se sont intéressés à l'étude de la rate ont réuni un faisceau varié de notions sur cet organe. Cependant les connaissances chimiques sont encore assez incomplètes. Néanmoins on emploie l'extrait de rate en thérapeutique.

Il est aujourd'hui acquis que le parenchyme splénique opère pour les rendre assimilables, des mutations sur ceux des principes immédiats, qui dans les cellules de l'économie toute entière jouent un rôle principalement physique : les lipides et les matières minérales.

Nous avons donc jugé utile d'essayer dans cette modeste étude chimique d'apporter quelques éclaircissements sur la composition de la rate.

Nos recherches comprennent deux parties principales : dans la première nous nous occupons de l'histoire de l'opothérapie, de la physiologie de la rate, de quelques données générales sur la rate, et nous rappelons les principaux travaux chimiques exécutés jusqu'à ce jour.

La deuxième partie comprendra nos recherches personnelles sur les matières minérales, les lipides, les protides, les ferments et les glucides existant dans la rate.

Ce travail a été élaboré dans le laboratoire de Chimie organique et biologique. Qu'il nous soit permis de remercier bien vivement notre cher Maître, Monsieur le Professeur Laborde qui nous a proposé le sujet de cette thèse. Nous tenons à lui exprimer ici notre respectueuse gratitude pour l'intérêt avec lequel il a guidé notre travail, il nous a toujours témoigné sa plus grande bienveillance.

Nous adressons également l'expression de notre gratitude à Monsieur le Professeur Jadin, Doyen de la Faculté de Pharmacie, ainsi qu'à Monsieur le Professeur Lobstein, qui ont bien voulu accepter de faire partie de notre jury de Thèse.

Nous devons aussi de vifs remerciements à Monsieur Lapp, Chef des Travaux pratiques à la Faculté de Pharmacie, et à Monsieur Bonnet, Maître de conférences à la Faculté des Sciences de Strasbourg, qui ont bien voulu nous aider de leurs précieux conseils au cours de nos recherches.

PREMIÈRE PARTIE.

I. Quelques brefs renseignements sur l'Opothérapie.

L'Opothérapie ou Organothérapie est la thérapeutique par les produits d'origine animale. Elle ne représente en réalité qu'une branche de la Chimiothérapie qui utilise les agents chimiques proprement dits; les produits opothérapiques bien que dérivés de la vie cellulaire ne sont plus vivants et sont par conséquent de simples corps chimiques. En effet, un médicament malgré son origine animale apparaît comme un simple corps chimique du moment où l'on connaît sa constitution chimique et qu'on peut le préparer synthétiquement, ce qui se passe par exemple pour l'adrénaline. Cependant, le mode d'action des produits opothérapiques est bien spécial. Ce sont des produits souvent spécifiques agissant électivement sur telle ou telle partie de l'organisme vivant, se comportant thérapeutiquement, comme ils se comporteraient chez l'animal dont on les extrait.

L'histoire de (1) l' « Opothérapie » prend naissance aux temps les plus reculés.

Les Indous, malgré leur croyance à la métempsychose, utilisaient des remèdes d'origine animale, spécialement des glandes génitales comme aphrodisiaque. Les Chinois eurent recours à un grand nombre de médicaments opothérapiques. Les Hébreux connaissaient l'usage du fiel dans les ophtalmies.

Homère raconte comment Chiron le Centaure fortifiait Achille en lui faisant ingérer de la moelle de lion. Hérodote,

---

(1) Carnot P. Médicaments animaux. Opothérapie 1911, Baillière et Fils, Edit., Paris.

Magnus H. — Die Organ- und Blut-Therapie, 1906, Kern-Verlag, Breslau.

Hallion L. — La Pratique de l'Opothérapie, 1911, Masson et Cie, Edit., Paris.

Gley E. — Les sécrétions internes, 1921, Baillière et Fils, Edit., Paris.

Byla P. et Penau H. — Les produits biologiques médicinaux, 1921.

Hippocrate et Asclépiade Pharmacion, parlent de médicaments animaux dont quelques-uns sont encore utilisés actuellement. Ainsi Hippocrate parle de l'emploi des cantharides dans les néphrites à doses très minimes, alors qu'elles produisent à la dose de quelques milligrammes une irritation très vive et des lésions marquées des reins; et du lait dans lequel on avait éteint des cailloux (addition de chaux) contre la diarrhée.

Musa, Andromarque et Galien introduisaient à Rome la chair de vipère contre les ulcères ainsi que la fameuse thériaque et le foie de loup pour traiter la jaunisse, etc...

Pline vante les remèdes animaux plus efficaces que ceux des plantes et les appelle des remèdes vivants.

Le Moyen-Age continue la tradition. Mesné, un arabe chrétien, donne des formules qui se trouvent jusqu'à la fin du XVI[e] siècle dans les Pharmacopées. On utilise la cervelle de chameau, le coeur de rossignol pour rétablir la mémoire, les excréments de porc pour combattre les hémorragies et les testicules de porc contre l'impuissance sexuelle.

Paracelse commence à extraire la quintessence des organes. Jean de Renou, médecin d'Henri IV, souligne la vertu particulière des excréments des animaux.

Au XVII[e] siècle l'opothérapie est toujours en vogue. On utilise d'une part les organes d'animaux (tels que foie, testicules, poumons, sang, etc...) et, d'autre part, des produits d'excrétion: la fiente de chien « album graecum », celle de porc, d'oie, d'épervier, d'homme, etc... On a aussi préconisé l'emploi dans un but thérapeutique d'animaux venimeux ou répugnants (vipère, scorpion, crapaud, etc...).

Mme de Sévigné écrivait à sa fille : « Mlle de la Fayette vient de prendre du bouillon de vipère qui lui donne des forces à vue d'oeil. J'ai pris huit gouttes d'essence d'urine de vipère pour mes vapeurs » et elle ajoute qu'elle se trouve bien du remède.

« La très ancienne pharmacie faisait entrer dans son code de matière médicale beaucoup de substances animales dégoutantes et qu'on ne peut même nommer sans répugnance. A me-

sure que les connaissences se sont développées on les a rejetées. » (2).

Il n'est pas étonnant qu'après tant d'abus vint la décadence. A la fin du XVIII[e] siècle, l'Opothérapie est très en discrédit et elle est pour ainsi dire oubliée du monde médical pendant un siècle. On n'employait plus guère comme remèdes animaux que les cantharides, le castoréum, les yeux d'écrevisse.

Le XIX[e] siècle vit renaître l'Opothérapie sur une base scientifique. En 1867 Claude Bernard pose le principe des sécrétions internes. Brown-Séquard en 1889 publiait les résultats de ses expériences sur l'action thérapeutique de l'extrait testiculaire (3). A la suite de recherches ultérieures il émet l'opinion que chaque tissu et en dernière analyse chaque cellule de l'organisme sécrète pour son propre compte des produits ou des ferments spéciaux qui sont versés dans le sang et qui viennent influencer, par l'intermédiaire de ce liquide, toutes les autres cellules, rendues ainsi solidaires les unes des autres par un mécanisme autre que celui du système nerveux (4).

Pour parer aux insuffisances sécrétoires, causes des troubles pathologiques, l'opothérapie moderne administre à l'organisme défaillant ces sécrétions internes parmi lesquelles il en est de nutritives, d'excitantes et d'autres modératrices. Certes, il y a encore des préparations opothérapiques dont la preuve de l'action pharmacodynamique ne se base que sur la très ancienne loi du remplacement d'un organe par celui que l'on emprunte aux organes homologues d'une autre espèce animale. Mais la science nouvelle de l'endocrinie se développe, et étend son domaine. D'empirique qu'elle était autrefois, l'Opothérapie tend de plus en plus, grâce au concours de sciences, comme la physiologie, la biologie et la chimie organique, à devenir scientifique et rationnelle et à offrir à la thérapeutique des ressources nouvelles et variées.

---

(2) Baumé. — Eléments de Pharmacie, 1797, p. 77.

(3) Brown-Séquard. — Des effets produits chez l'homme par des injections sous-cutanées d'un liquide retiré des testicules de cobayes et de lapins, C. R. Soc. Biolog., Juin 1889, p. 415.

(4) Brown-Séquard et d'Arsonval. — De l'injection des extraits liquides provenant des glandes et des tissus de l'organisme comme méthode thérapeutique. C. R. Soc. Biolog., 1891, XXXXIII, p. 248, 265.

II. Quelques données générales sur la rate,

1. Histoire de la rate comme médicament opothérapique splénique

L'Opothérapie splénique n'était pas très répandue jusqu'à présent. Cependant on employait la rate dans l'antiquité et au moyen âge, soit desséchée, soit crue, soit dans une infusion. Elle provenait surtout du renard, du chat, du chien et du veau et était utilisée dans les maladies de la rate et les fièvres.

2. Mode d'action et indications thérapeutiques

Son emploi est indiqué aujourd'hui surtout dans les cas d'anémies, d'hémorragies, d'arrêt de développement, d'infections et de tuberculose (5).

La forme qui prévaut est la poudre de rate ou splénine. L'industrie prépare une forme sèche (cachets contenant 0,25 à 0,50 de splénine dont on prend 2 à 4 par jour) et une forme dragéifiée (granules de splénine à 0,15; 4 à 8 par jour). La splénine est aussi utilisée sous forme d'extrait liquide soit par ingestion, soit par injection en ampoules.

3. Préparation

Les organes, provenant surtout du porc, sont soigneusement débarrassés de toute annexe, broyés au moulin. La pulpe obtenue est étalée en une mince couche sur les cuvettes de porcelaine et séchée dans le vide à une température qui ne dépasse pas 20° à 25°. La pulpe est réduite en poudre et mise ensuite dans des bocaux en verre.

4. Sa composition chimique

La rate a été l'objet de nombreuses analyses chimiques dont nous ne citerons que celles qui nous paraissent les plus intéressantes.

Oidtmann (6) a recherché surtout les matières minérales des cendres de la rate de l'homme, de la femme et du nouveau-né.

(5) Byla. — Etabliss. Compendium médical, Paris 1929.

Gorup-Besanez (7) a analysé la glande fraîche de l'homme et du boeuf et a constaté qu'à côté des matières minérales, la rate renferme quelques acides organiques.

Rumpf et Dennstedt (8) reprirent les méthodes de Katz (9) et portèrent leurs travaux sur les organes malades.

Lepinois (10) a résumé ses résultats dans le tableau cité à propos de l'azote.

Enfin, Lematte, Boinot et Kahane (11) ont étudié la rate spécialement au point de vue des matières minérales; voici leurs résultats :

Composition de rate sèche en %

NaOH	0,814
KOH	2,421
$Ca(OH)^2$	0,029
$Mg(OH)^2$	0,255
SO^4H^2	1,601
PO^4H^3	4,459
HCl	0,640
$Fe(OH)^2$	0,240
Azote	11,037

Si nous comparons les chiffres trouvés par différents auteurs nous constatons une grande variabilité de la composition

---

(6) Oidtmann H. — Die anorg. Bestandteile der Leber und Milz, Linnich 1858.

(7) Gorup-Besanez. — Physiologische Chemie, Vieweg u. Sohn, Edit., 1874, Braunschweig.

(8) Rumpf Th. — Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung des Blutes und verschiedener menschlicher Organe in Krankheiten. Mitt. Hamburger Staatskrankenanstalt, 1902, III, p. 1.

(9) Katz Julius. — Fleischanalysen, Pflügers Archiv., 1896, T. LXIII, p. 1.

(10) Lepinois E. — Etude historique, chimique et pharmacologique des principales préparations organothérapiques. Thèse Doct. Pharm., Paris 1899.

(11) Lematte L., Boinot G. et Kahane E. — Dosage des minéraux contenus dans les principaux organes utilisés en opothérapie. Journ. Ph. et Chim. [8], 1927, V. p. 325, 361.

qui est due vraisemblablement à une différence de la structure histologique de la rate, suivant l'âge, le sexe, l'alimentation, l'état de santé de l'homme ou de l'animal dont provenait l'échantillon analysé.

III. Teneur en phosphore.

Le phosphore est un constituant fondamental des tissus, il s'y trouve en combinaisons variées qui toutes jouent dans la matière vivante un rôle essentiel. Ces combinaisons sont des phosphates minéraux, des éthers phosphoriques, des phosphatides, des nucléoprotéides et d'autres composés moins connus.

Javillier (12) et ses élèves ont recherché avec beaucoup de soin le phosphore total et le phosphore engagé sous différentes formes dans les tissus animaux et ont établi l'existence effective de plusieurs indices.

Nous nous sommes contentés de doser le phosphore total et ayant trouvé des chiffres semblables à ceux de Javillier nous n'avons pas trouvé opportun de refaire les recherches déjà faites par des auteurs aussi habiles. Nous indiquerons dans le chapitre des matières minérales la technique et le résultat obtenu par nous pour le phosphore total. Ici, nous décrirons les méthodes employées et les résultats obtenus pour le phosphore sous ses différentes formes par les auteurs cités.

1. Dosage du phosphore total

Ces savants se sont servis de la méthode chorosimétrique de Copaux (13), qui repose sur le principe que l'acide phosphorique en solution dans l'eau saturée d'éther et fortement acidifiée par SO^4H^2 donne un dérivé phospho-molybdique liquide, insoluble dans son eau-mère et dont le volume, pour une température déterminée est proportionnel au poids de P^2O^5 combiné. Ils ont utilisé une ampoule spéciale graduée.

---

(12) Javillier M., Allaire H. et Mlle Groc. — Sur un principe nouveau pour l'essai des poudres organothérapiques, Journ. Ph. et Chim. [8], 1925, I, p. 513.

(13) Copaux H. — Procédé rapide pour doser l'acide phosphorique, C R. Acad. Sc., 1921, CLXXIII, p. 656.

2. Dosage du phosphore lipidique

Javillier et ses collaborateurs (14) ont soumis la poudre d'organe à une délipoïdation au moyen de l'alcool à 95° dans l'appareil de Kumagawa-Suto où la matière et le liquide qui la lixivie se trouvent plongés dans la vapeur du solvant porté à l'ébullition. Le résidu de l'extrait alcoolique deshydraté par de l'alcool absolu est repris par de l'éther, puis par du benzène. La liqueur éthero-benzénique est centrifugée, décantée exactement dans un ballon de Kjeldahl et distillée. Le résidu de la distillation est soumis à la destruction afin d'éliminer la matière organique. La liqueur ainsi obtenue a servi au dosage du phosphore selon la méthode de Copaux.

3. Dosage du phosphore nucléique

Javillier et Allaire (15) ont procédé sur la poudre à une délipoïdation, puis l'ont soumise dans des conditions bien déterminées de temps et de température à l'action d'une solution de chlorure de sodium à 15 % qui dissout les nucléides. Ils ont précipité l'acide nucléique de la solution chlorurée par de l'acide chlorhydrique. Le précipité séparé est détruit par le mélange sulfo-nitrique et le phosphore est dosé.

4. Résultats

Ils ont expérimenté sur des échantillons de rate provenant de plusieurs animaux : cheval, porc, boeuf, veau et mouton et ont trouvé les résultats suivants (16) :

	Dans 100 parties de poudre sèche :			
	P. total	P. lipidique	P. nucléique	P. minéral + P. Org. indosé
Rate de cheval	1,205	0,241	0,380	0.584
— porc	1,318	0,302	0,406	0,616
— boeuf	1,300	0.340	0,414	0,546
— veau	1,428	0,380		
— mouton	1,417	0,298	0,428	0,691

(14) Javillier M., Allaire H. et Mme Hinglais-Groc. — L'analyse des poudres organothérapiques. — Leur teneur en phosphore total, lipidique et nucléique. Bull. Sc. Pharmacol., 1925, XXXII, p. 641.

(15) Javillier M. et Allaire H. — Sur le dosage du phosphore nucléique dans les tissus des animaux, Bull. Soc. Chimie biologique 1925, VII, p. 486.

(16) Javillier M., Allaire H. et Mme Hinglais-Groc. — L. c., p. 650.

5. Commentaires et Conclusions

Comparant ces résultats avec ceux obtenus pour d'autres organes, Javillier prouve que la rate est riche en phosphore nucléique (0,38 à 0,43 %), assez riche en phosphore total (1,2 à 1,43 %) et peu riche en phosphore lipoïdique (0,24 à 0,38 %). Mais les chiffres absolus ne sont pas seulement intéressants par eux-mêmes. Les rapports que l'on peut établir entre eux présentent aussi un vif intérêt et notamment les rapports qu'ils désignent sous les noms de :

Indice du phosphore lipidique : C'est la quantité de phosphore lipidique, exprimée en mgr. existant dans 100 gr. de tissu. — Puis ils ont établi le rapport $\frac{\text{P lipidique}}{\text{P total}} \times 100$;

Il en résulte que la rate ne renferme qu'une faible fraction de phosphore sous forme lipidique (20 à 26 %).

L'indice de phosphore nucléique (17), c'est-à-dire la quantité de phosphore nucléique, exprimée en mgr., présente dans 100 gr. de tissu. Son rapport : $\frac{\text{P nucléique}}{\text{P total}} \times 100$; la conclusion est que la rate renferme une fraction élevée (30,0 à 31,8 %) de son phosphore sous forme de composés nucléiques. Il va sans dire que ces chiffres ne sont pas absolus; ainsi Javillier a trouvé dans la rate de cheval pour l'indice du phosphore nucléique les différences suivantes, suivant l'âge de l'animal :

	Indices du P. nucléique rapportés aux organes secs :			
Rate	18 mois 390	2 ans 429	15 ans 330	15 ans 340

Il n'en reste pas moins vrai que ces indices ont une certaine valeur pour l'identification et le contrôle des poudres opothérapiques.

(17) Javillier M. et Allaire H. — Sur l'existence d'un indice de phosphore nucléique des tissus, Bull. Soc. Chim. biol. 1926, VIII, p. 924.

PHYSIOLOGIE ET ANATOMIE DE LA RATE

1. STRUCTURE DE LA RATE

« C'est un amas volumineux et anatomiquement isolé de tissu réticulo-endothélial. C'est encore un immense ganglion, une énorme glande hémale annexée aux viscères digestifs de l'abdomen et dont l'étude est, quoique avec certaines modalités forcément subordonnée à celle du système réticulo-endothélial en général » (18).

On trouve dans la pulpe blanche des éléments de la série blanche et surtout les lymphocytes. On trouve principalement dans la pulpe rouge, des globules chargés d'hémoglobine, les uns normaux, les autres en voie de destruction (19).

2. FONCTIONS DE LA RATE

Rien n'est plus difficile à établir que les fonctions individuelles de chaque glande, d'autant qu'il existe entre elles des relations complexes résultant de la synergie ou de l'antagonisme des hormones. Les travaux des physiologistes qui cherchent à pénétrer le mécanisme si complexe des fonctions vitales conduisent à des résultats différents. Pourtant on ne peut pas prétendre que la rate joue un rôle physiologique lui appartenant exclusivement, puisqu'il est suffisamment prouvé par les observations d'hommes et d'animaux splénectomisés qu'elle n'est pas indispensable à la vie. « Il appert que la rate peut être suppléée par les ganglions lymphathiques, les glandes hémales, les granulations lymphoïdes, les cellules de Kupffer, etc..., formations anatomiques caractérisées par une trame de cellules anastomosées entre elles. »

Piéri et Zuccarelli (20) concluent à la suite de recherches et d'expérimentations du domaine de l'anatomie macroscopique, de la pathologie, de la thérapeutique, à l'existence de diverses fonctions spléniques que nous citons et résumons :

---

(18) Roger N. H. — Traité de Physiologie normale et pathologique. Sécrétions internes, 1929, IV, Masson et Cie, Edit., Paris.

(19) Carnot P. — Loco citato.

(20) Pieri J. et Zuccarelli J. — Physiologie de la rate, Gazette des Hôpitaux, 1923, n° 66, p. 1057.

I. — ROLE DE REGULARISATION DES ELEMENTS FIGURES DU SANG (ROLE HEMATOPOIETIQUE)

A. — LA RATE ET LE GLOBULE ROUGE

1° *La rate productrice de globules rouges chez l'enfant.* — Cette fonction disparaît chez l'adulte.

2° *La rate mûrit le globule rouge.* Elle contient plus de fer que le sang, à poids égal. Quelle que soit l'origine du fer, soit par l'alimentation, soit par introduction intra-organique, il s'accumule dans la rate et sert ainsi à reconstituer le fer sanguin.

3° *La rate détruit le globule rouge.* En effet, on trouve dans le parenchyme splénique des globules rouges en voie d'altération ou de destruction.

4° *La rate protège le globule rouge.* On a démontré que la rate contient des antihémolysines qui disparaissent par chauffage entre 54° à 58°.

B. — LA RATE ET LE GLOBULE BLANC

Son rôle vis-à-vis du globule blanc est moins important que vis-à-vis du globule rouge. Ici, elle joue un rôle spécial et exclusif, tandis qu'en ce qui concerne les globules blancs elle ne fait qu'unir son action à celle des autres organes lymphoïdes.

II. — ROLE DE REGULARISATION DU COURANT SANGUIN

Elle régularise le courant sanguin.

Ces mêmes auteurs envisagent :

1° Une circulation propre à la rate c'est-à-dire à l'intérieur du tissu splénique.

2° Une relation de cette circulation avec celle de la circulation abdominale. Ainsi la rate joue le rôle d'un « réservoir » branché sur la circulation porte et destiné à en amortir les brusques variations. Ce rôle de régulateur splénique est démontré aussi par de nombreux faits cliniques.

III. — ROLE DIGESTIF

La rate n'est pas nécessaire à la digestion, mais elle y joue un rôle certain, prouvé par des observations macroscopiques, histologiques, thérapeutiques et cliniques.

IV. — ROLE DANS LA NUTRITION GENERALE

Elle paraît jouer un rôle multiple dans la nutrition.

1° *Rôle dans le métabolisme azoté.* La rate semble pouvoir fabriquer de l'urée et de l'acide urique.

2° *Fonction cholestérogène et rôle* dans le métabolisme des graisses, rôle de première importance. En effet, comme nous verrons plus loin, la rate est très riche en cholestérine. Alors que dans les autres organes et tissus, on observe surtout de la *cholestérolyse,* la rate est le seul organe *cholestérogénétique* (transformation des lipides alimentaires en cholestérine).

3° *Rôle dans le métabolisme des hydrates de carbone.* Pour Richet (21) la rate joue un rôle important sinon essentiel dans l'assimilation des hydrates de carbone.

4° *Rôle d'assimilation du fer.* La rate semble assimiler et fixer le fer. Elle s'empare de tout le fer introduit lentement dans l'organisme.

V — ROLE DE SYNERGIE HEPATO-SPLENIQUE

Il s'agit non seulement de connexions circulatoires, mais également de véritables synergies fonctionnelles.

1° Le sang veineux, après avoir traversé la rate où il a pu subir des modifications, traverse fatalement le foie et peut l'adultérer; inversement, tout trouble de la circulation hépatique peut réagir sur la rate par congestion passive.

2° *La fonction biliaire* dévolue au foie est, dans une grande mesure, liée à la *fonction hémolytique* de la rate. Celle-ci libère l'hémoglobine que le foie utilise pour la biligénie.

Dans la fonction hématopoïétique, *le foie et la rate* paraissent également associés chez le foetus.

Vis-à-vis de l'infection hépatique, soit que celle-ci survienne par voie ascendante ou par voie sanguine, on a observé une réaction splénique de défense et inversement.

Y a-t-il d'autres synergies fonctionnelles entre la rate et les diverses glandes à sécrétion interne ? On a envisagé la

(21) Richet Ch. — Rôle de la rate dans la nutrition. C. R. Ac. Sc. 1923, CLXXVI, p. 1581.

synergie surrénalosplénique; Parisot a montré que les globules rouges préalablement sensibilisés par l'adrénaline sont hémolysés par l'extrait de rate. Enfin, il semble que la rate joue un rôle inhibiteur sur la moelle osseuse, soit que cette action s'exerce directement ou par l'intermédiaire d'une hormone.

VI. — ROLE DE LA RATE DANS LA DEFENSE DE L'ORGANISME

Ce rôle est en rapport avec les fonctions et la multiplicité des actions de la rate.

1° *Dans les processus hémolytiques.* On constate des lésions profondes de la rate dans les hémolyses massives; les déchets s'y accumulent dans les hémolyses lentes.

2° *Dans les infections.* A côté du rôle phagocytaire de la rate on admet que celle-ci donne naissance à des substances bactéricides.

3° *Dans les intoxications* (par l'arsenic par exemple) la rate joue le même rôle de *fixation et de transformation.*

Ainsi dans certains cas de processus hémolytiques d'infections ou d'intoxications, la rate devient un vrai réservoir pathogène et peut aussi, par hyperfonctionnement, déterminer l'apparition dans le sang de substances nocives d'où résulte l'indication légitime des splénectomies.

Piéri et Zuccarelli concluent donc que la rate a un double rôle :

1° Rôle de régularisation de la circulation abdominale, d'une part;

2° Rôle biologique régulateur de la composition sanguine portant soit sur le plasma (fonction de nutrition générale, fonction digestive, etc...), soit sur les éléments figurés du sang.

DEUXIEME PARTIE.

Détermination du P_H+ de la Poudre de Rate.

La concentration en ions H+ joue un rôle capital dans l'action dédoublante des enzymes. Nous avons adopté pour cette étude, la méthode colorimétrique de Soerensen (22). Elle est basée sur l'aspect et la nature de la coloration communiquée par les indicateurs (phtaléines sulfonées) à un milieu donné suivant la valeur du P_H de ce milieu. Cette coloration est comparée à celles d'étalons traités dans les mêmes conditions par les mêmes indicateurs, et correspondant à un P_H connu. Un indicateur est une substance qui subit un changement profond de constitution accompagné d'un changement de couleur par la variation des ions H+ dans le milieu où elle est dissoute.

Indicateurs de Clark (23)	Noms chimiques usuels	Virage pour le passage de P_H à P_H	Limites de P_H
Thymolsulfone-phtaléine	Bleu de thymol	rouge-jaune	1,2—2,8
Tétrabromophénol sulfone phtaléine	Bleu de bromo-phénol	jaune-bleu	2,8—4,6
O-carboxybenzène azo-diméthylaniline	Rouge de méthyle	rouge-jaune	4,4—6,0
Dibromo-o-crésol sulfone phtaléine	Pourpre de bromo-crésol	jaune-pourpre	5,2—6,8
Dibromothymol sulfonephtaléine	Bleu de bromo-thymol	jaune-bleu	6,0—7,6
Phénolsulfonephtaléine	Rouge de phénol	jaune-rouge	6,8—8,4
Orthocrésol sulfonephtaléine	Rouge de crésol	jaune-rouge-violet	7,2—8,8
Thymolsulfonephtaléine	Bleu de thymol	jaune-bleu	8,0—9,6

(22) Soerensen. — Etudes enzymatiques, C. R. du labor. de Carlsberg, 1909, VIII, livraison I.

(23) Guillaumin. — Sur la détermination colorimétrique de la concentration en ions H+ des liquides biologiques. Journ. Ph. et Chim. 1922, T. XXV, p. 175, 221.

Avec ces produits on prépare des *solutions colorantes :* elles s'obtiennent en dissolvant 0 gr. 10 de colorant dans 500 cm^3 d'alcool à 95° et diluant à 800 cm^3 avec de l'eau bi-distillée neutre. Ces solutions s'emploient à 0 cm^3 5 pour 10 cm^3 de liquide en expérience.

L'eau distillée neutre est obtenue par une première distillation après addition de quelques cm^3 d'une solution de bichromate de potassium additionnée elle-même d'acide sulfurique. Cette distillation est suivie d'une seconde en présence de baryte. L'eau bidistillée ainsi obtenue est conservée en ballon de verre bien fermé. Si l'eau se charge de CO^2 et devient légèrement acide, nous portons doucement à l'ébullition et laissons refroidir avant l'utilisation.

Préparation des solutions étalons. — Pour l'obtention des solutions tampons nous nous sommes adressés aux mélanges de phosphates et aux mélanges de citrates (24).

Technique de la détermination du P_H — On place 0 gr. 50 de poudre d'organe dans 50 cm^3 d'eau bi-distillée sensiblement neutre (P_H=6,6) et on ajoute V gouttes de toluène et abandonne à l'étuve à 37° pendant 24 heures. On filtre. En même temps on fait digérer 50 cm^3 d'eau distillée avec V gouttes de toluène à l'étuve à 37°. On filtre et détermine la concentration en ions hydrogène de ces filtrats. A cet effet, on se sert des étalons colorés et salins de composition et de P_H connus. On détermine d'abord la valeur approximative du P_H par l'indicateur nommé rouge-Congo (qui se compose de phénolphtaléine 10 mmgr., rouge carmin 20 mmgr., alcool q. s. pour dissoudre et eau distillée q. s. pour avoir 1000 cm^3). Ainsi, nous avons trouvé que la valeur du P_H est comprise entre 4 et 8 pour les solutions en question. Entre ces deux couleurs extrêmes, on peut observer toute une série de teintes dites sensibles, chacune correspondant à une valeur déterminée de P_H. Nous déposons dans une série de tubes à essais environ 2 cm^3 du

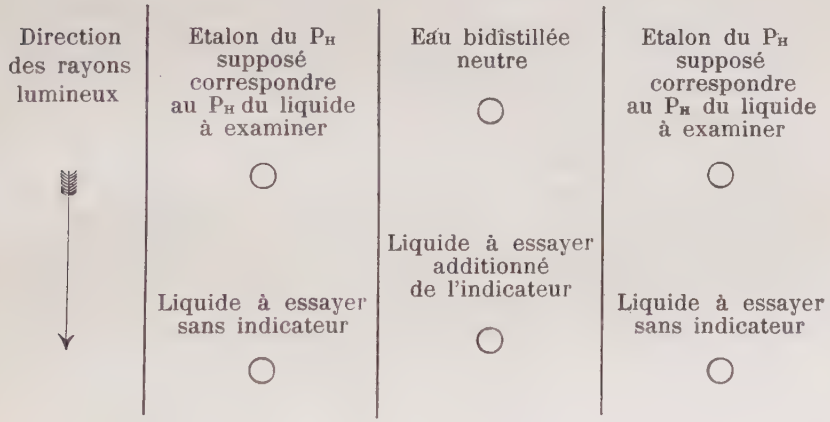
---

(24) Soerensen, l. c., p. 35 et 39.

Lassieur A. — Electrotitrimétrie, Bull. Soc. Chimique de France 1922, XXXI, p. 817.

liquide à essayer et 2 gouttes de chaque colorant. Le bleu de bromophénol, le bleu de bromothymol, le rouge de méthyle donnent dans notre cas immédiatement la teinte limite. Le rouge de phénol et le rouge de crésol ne virent pas. Ce premier essai nous permet donc d'arrêter notre choix sur le bromocrésol pourpre. Nous ajoutons à 10 cm³ du liquide à essayer 1/2 cm³ de la solution colorante et comparons la teinte obtenue avec les planches colorées de Clark (25).

Cette comparaison nous donne la valeur approximative du P_H du liquide essayé. A l'aide des solutions tampons, nous préparons le mélange correspondant au P_H trouvé, ainsi que les mélanges de concentration ionique voisine. Pour comparer le liquide à essayer avec les solutions étalons nous employons un support maintenant les tubes inclinés à 35-40° sur un fond horizontal blanc suivant le tableau ci-dessous:



En opérant ainsi nous avons trouvé pour notre échantillon un P_H de 5,8. Nous avons contrôlé l'eau bidistillée additionnée de toluène et avons trouvé par les indicateurs de bromocrésol pourpre, bromosulfone phtaléine et bromothymol bleu qu'elle était parfaitement neutre c'est-à-dire qu'elle correspondait à un P_H de 6,6.

---

(25) Clark. — The determination of hydrogen ions. Williams and Wilkins Co, Edit., Baltimore 1922.

Remarquons que la même détermination opérée par Muammer Enver (26) dans son étude sur la glande thyroïde a donné 6,1. Par conséquent le pouvoir acide de la rate est supérieur à celui de la glande thyroïde.»

(26) Muammer Enver. — Contribution à l'étude chimique de la glande thyroïde. Thèse Doct. Pharm., Strasbourg 1931.

ÉTUDE DES MATIÈRES MINÉRALES.

I. Recherches qualitatives

Nous nous sommes servis pour l'analyse qualitative des métaux du spectromètre de Jobin et Yvon. La méthode est basée sur le principe que les radiations émises par un corps sont caractéristiques de ce corps et leur ensemble constitue le spectre d'émission du corps.

5 grammes de poudre de rate ont été calcinés au moufle dans un creuset en platine au rouge sombre. Cette opération est continuée jusqu'à calcination complète. Les cendres sont alors légèrement verdâtres avec des points rouges sur les parois du creuset. On laisse refroidir et pulvérise les cendres. Ensuite on les mélange avec 1/3 de leur poids de charbon pur. Pour la détermination on remplit les cavités des électrodes avec ce mélange. Nous avons utilisé des électrodes en charbon purifié, parce que les électrodes en argent et en platine nous ont donné de très mauvais résultats. Les premiers gênaient par la grande intensité du spectre propre à l'argent. Les électrodes en platine fondaient. Au moyen du spectromètre nous avons pu constater dans les cendres de rate les métaux suivants :

Na Mg Fe Ti
K Ca Mn

compte tenu des causes perturbatrices dues au charbon.

II. Recherches quantitatives

1. DOSAGE DE L'HUMIDITE

Nous avons dosé l'humidité en chauffant à 105° 5 grammes de poudre de rate jusqu'à poids constant. L'échantillon étudié contient 9,3 % d'humidité.

(27) Mémento du Chimiste : Première partie scientifique, Dunod, Editeur, p. 325.

2. DOSAGE DES CENDRES

a) *Dosage des cendres solubles*

Pour cela nous avons eu recours à la méthode indiquée par Fabre et Penau (28) qui consiste à faire un extrait aqueux de la substance préalablement calcinée à la lampe à alcool. Les extraits réunis sont évaporés et desséchés. 100 grammes de poudre de rate renfermant 3,23 gr. de cendres solubles.

b) *Dosage des cendres insolubles*

Le résidu charbonneux du dosage des cendres solubles est séché et calciné au moufle. 100 grammes de poudre de rate contiennent 3,38 gr. de cendres insolubles.

c) *Dosage des cendres totales*

Enfin la somme des cendres solubles et insolubles nous donne le poids des cendres totales renfermées dans l'extrait de rate étudié non desséché; il est de 6,61 gr.

d) *Dosage de l'alcalinité*

Ce dosage a été pratiqué sur les cendres insolubles; à cet effet le résidu est traité par un excès d'acide sulfurique décinormal, porté au B.M., puis filtré. L'excès d'acide sulfurique est dosé par une solution de soude décinormale en présence d'hélianthine comme indicateur. L'alcalinité est exprimée en carbonate de soude; elle est pour la rate étudiée de 28,85 grammes pour cent gr. de cendres insolubles et 0,975 grammes pour cent gr. de poudre de rate.

e) *Dosage des chlorures*

Le résidu salin (cendres solubles) est redissout dans l'eau distillée aiguisée par l'acide azotique à 5 p. 100. On ajoute à cette liqueur un excès de nitrate d'argent décinormal. L'argent en excès est titré à l'aide d'une solution de sulfocyanure de potassium décinormale en présence d'alun de fer, suivant la méthode de Charpentier-Volhard. La quantité de chlorure de sodium trouvée dans 100 gr. de poudre de rate est 0,99 gr.

---

(28) Fabre R. et Penau H. — Examens chimiques des poudres opothérapiques. Journ. Pharm. et Chim. [8], 1923, XXVII, p. 281.

3. DOSAGE DU SODIUM

Pour le dosage de très petites quantités de sodium en biologie on utilise à présent deux réactions également intéressantes. La première repose sur la formation d'un composé insoluble obtenu à l'aide du pyroantimoniate de potasse et des sels de sodium. La seconde a été découverte par Streng (29) et a été appliquée à une méthode pondérale par Blanchetière (30); elle consiste à former un acétate *triple* d'uranium, de magnésium et de sodium

$$3(C^2H^3O^2)^2UO^2,(C^2H^3O^2)^2Mg,(C^2H^5O^2)Na,9H^2O$$

insoluble dans le milieu où il se forme et dans l'alcool à 95°; ce dernier, dissolvant au contraire parfaitement les acétates d'uranyle et de magnésium du réactif.

Nous nous sommes décidés pour la méthode de Blanchetière. Elle a été discutée dans de nombreux travaux et en particulier dans ceux de Laudat(31), de Grabar (32) et de Kahane (33). Ces auteurs ont tâché de montrer les grandes erreurs qui peuvent se produire au cours d'une exécution défectueuse de la technique prescrite. Mais il y a lieu de faire observer que la présence des métaux autres que le sodium dans les cendres ne trouble pas le dosage. L'acide phosphorique seul est un élément perturbateur; on doit donc l'éliminer.

Il faut au préalable détruire les matières organiques: 1 gr. de poudre a été traité par 10 cm³ du mélange (34) suivant: 4 cm³

---

(29) Streng. — Ueber die Ausführung einiger mikrochemischer Reaktionen. Zeitschr. f. analyt. Chemie, 1885, XXIII, p. 115, et Chem. Centralbl., 1886, p. 488.

(30) Blanchetière A. — Sur une méthode de dosage du sodium. Bull. Soc. Chim., 1923, XXXIII, p. 807.

(31) Laudat M. — Etude des méthodes récentes de dosage du sodium et de leur application à la biologie. Bull. Soc. Chim. biol., 1928, X, p. 757.

(32) Grabar P. — Microméthode de dosage du sodium dans les milieux biologiques. Bull. Soc. Chim. biol., 1929, XI, p. 58.

(33) Kahane F. — Le dosage du sodium par la méthode à l'uranyle. Bull. Soc. Chim. de France, 1930, XLVII, p. 382, 193.

d'acide nitrique fumant (densité 1,49), 2 cm^3 d'acide perchlorique (densité 1.615) et 2 cm^3 d'eau distillée. On chauffe avec précaution jusqu'à ce que la solution devienne incolore. L'oxydation est terminée en 2 heures et demie.

On neutralise alors avec de l'ammoniaque et chauffe au B.M. On filtre le précipité (constitué par des oxydes hydratés de métaux lourds), on le lave soigneusement; ensuite on porte la solution à 25 cm^3 dans une fiole jaugée.

20 cm^3 de cette liqueur sont centrifugés. On précipite l'acide phosphorique par un excès connu de liqueur acétique d'acétate d'urane que l'on mélange et abandonne jusqu'à floculation nette. A ce moment on centrifuge de nouveau; on prélève une fraction correspondant à 0 gr. 40 de la prise d'essai et on l'introduit dans 10 fois son volume de réactif urano-magnésien. On laisse reposer, on filtre et lave le précipité comme l'ont indiqué les différents auteurs mentionnés ci-dessus. On dessèche à l'étuve à 110°, laisse refroidir et pèse. 1 gramme du précipité correspond à 0 gr. 015 de sodium.

Nous avons ainsi trouvé 0,48 gr. de sodium dans 100 gr. de poudre de rate étudiée ou 1,296 gr. exprimé en oxyde de sodium (Na^2O).

4. DOSAGE DU POTASSIUM

Pour le potassium nous nous sommes servis du procédé de Garola et Braun (35), qui consiste essentiellement à faire agir le cobaltonitrite de sodium sur la potasse, ce qui donne du cobaltonitrite de potassium.

Nous avons commencé par détruire la matière organique de 5 gr. de poudre de rate suivant la technique indiquée pour le sodium. Puis nous avons débarrassé la solution parfaitement limpide des autres bases par le carbonate de sodium. Le filtrat est concentré à petit volume, acidifié par l'acide acétique et additionné d'un excès de réactif de nitrite cobalti-sodique. Le mode

(34) Lematte L., Boinot G. et Kahane E.: l. c.

(35) Garola et Braun. — Dosage pondéral de la potasse. Annales des falsifications, 1917, p. 512.

opératoire est très important pour assurer la fixité de la composition du précipité. Ce dernier répond à la formule :

$$K,Na,Co,\ 6NO^2,H^2O.$$

Le précipité est laissé au repos 12 heures en vase bien bouché; ensuite nous avons filtré dans un creuset taré de Gooch. Le précipité est lavé avec de l'eau distillée additionnée de 10 % d'acide acétique jusqu'à ce que le liquide passe parfaitement incolore puis une fois avec l'alcool à 95° afin d'enlever l'eau et de faciliter la dessication. Le creuset est desséché à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant et pesé. En tenant compte des poids moléculaires le poids du précipité est multiplié par le facteur 0,2074 représentant du p. m. du sel cobaltique potassique. Nous avons constaté que 100 gr. de rate étudiée renferment 4,157 gr. de potassium exprimé en oxyde de potassium (K^2O).

5. DOSAGE DU CALCIUM

Nous avons suivi pour ce dosage une méthode qui se base sur le fait que les sels de calcium donnent avec l'acide oxalique ou les oxalates, un oxalate insoluble dans l'eau. Au moyen d'une solution de permanganate de potassium, nous avons déterminé volumétriquement la quantité d'acide oxalique et, par voie de conséquence, la chaux qui lui était combinée.

La matière organique (soit 8 gr. de poudre de rate) a été détruite par 40 cm^3 d'un mélange de 35 cm^3 d'acide sulfurique pur à 66° et de 65 cm^3 d'acide perchlorique pur (densité 1.615) suivant la méthode de Lematte, Boinot et Kahane. L'ébullition est régularisée au moyen de billes de verre. Le chauffage se fait avec précaution jusqu'à désagrégation, puis à feu nu jusqu'à élimination des vapeurs.

La solution limpide, additionnée de deux gouttes d'une solution à 1 % d'hélianthine est précipitée par de l'ammoniaque. On dissout ce précipité dans une solution saturée et chaude de chlorure d'ammonium et de citrate d'ammoniaque. On ajoute alors 2 cm^3 d'une solution saturée d'acide oxalique et on fait virer au rouge l'hélianthine par l'acide chlorhydrique. On ramène à la neutralité par l'ammoniaque, puis ajoute goutte à goutte 2 cm^3 d'une solution bouillante d'oxalate d'ammoniaque. Le pré-

cipité est alors dense et à l'état de grains cristallisés suffisamment gros, pour ne pas traverser le filtre et par conséquent pour être retenu par ce dernier.

Pour qu'il en soit ainsi, il est nécessaire de prendre toutes ces précautions. Le précipité d'oxalate de chaux est dissout dans de l'acide sulfurique à 6 % et titré par une solution de permanganate de potasse à 0 gr. 160 pour 1000 cm^3. 1 cm^3 de cette solution correspond à 1 mgr. de CaO ou à 1 mgr. 321 de $Ca(OH)^2$.

Nous avons ainsi constaté que 100 gr. de notre poudre de rate contiennent 0,04458 gr. de chaux hydratée ce qui correspond à 0,03375 gr. d'oxyde de calcium (CaO).

6. DOSAGE DE LA MAGNESIE

La solution privée de la chaux est neutralisée par la soude, acidifiée par quelques gouttes d'acide chlorhydrique, additionnée de phosphate de soude et d'un excès d'ammoniaque. Il se forme un précipité cristallin de phosphate ammoniaco-magnésien qui, par calcination se transforme en pyrophosphate de magnésium. On pèse. Le poids de ce sel multiplié par 0,21839 donne en magnésium le résultat; par 0,36207 celui en MgO.

Ces coefficients correspondent au poids atomique du magnésium et au poids moléculaire de l'oxyde de magnésium (MgO) 100 gr. de poudre de rate renferment 0,108 grammes de magnésium, soit 0,179 grammes en oxyde de magnésium (MgO).

7. DOSAGE DU FER

Nous avons suivi en principe la méthode indiquée par Scagliarini et Pratesi (36). Elle consiste en une réduction quantitative du Fe''' en Fe'' par le cuivre métallique en présence d'acide sulfurique et réoxydation ultérieure au moyen du permanganate de potasse.

Nous avons effectué la destruction des matières organiques de 5 gr. de poudre de rate suivant la technique énoncée lors du dosage du sodium.

(36) Scagliarini et Pratesi. — Méthode rapide de dosage du fer. Ann. chimic, applicat., 1929, XIX, cité par Bull. Soc. Chim. biol., 1929, XXXXVI, p. 1156.

La solution ferrique est mise dans un vase de 800 cm^3 contenant 250 cm^3 d'eau distillée. On ajoute 15 cm^3 d'acide sulfurique concentré et chauffé. On introduit dans le liquide entré en ébullition une spirale de cuivre attachée à une baguette de verre et continue l'ébullition pendant 15 minutes. On laisse refroidir et on ajoute au liquide quelques cristaux de carbonate de sodium. On étend avec de l'eau jusqu'à 400 à 500 cm^3 et l'on titre à froid avec du permanganate de potassium décinormal.

Nous avons trouvé que 100 gr. de l'extrait de rate étudié renferment 0,33 gr. Fe ou 0,942 gr. en oxyde de fer (Fe^2O^3).

8. DOSAGE DU MANGANESE

Le manganèse se trouve très répandu dans le règne animal (37) et le règne végétal (38) et tient une place prépondérante parmi les éléments catalytiques par son rôle activateur des phénomènes enzymatiques. MM. Jadin et Astruc ont analysé de nombreux végétaux et ont montré que la présence du manganèse est constante chez les plantes.

Le dosage est effectué selon la technique de G. Bertrand et Rosenblatt (39) dont le principe consiste à transformer le manganèse en permanganate de potassium et à comparer l'intensité de la coloration obtenue avec une gamme de solutions étalons contenant des quantités connues de manganèse semblablement traité.

La matière organique de 5 gr. d'extrait de rate a été détruite par incinération au rouge sombre. Le manganèse se trouve alors à l'état de sesquioxyde. Les cendres sont dissoutes dans l'acide chlorhydrique concentré, évaporées au B. M. et calcinées de nou-

---

(37) Bertrand G. et Medigreceanu. — Recherches sur la présence du manganèse dans la série animale. Bull. Soc. Chim., 1912, XI, p. 834, 857, et C. R. Ac. Sc., 1912, CLIV, p. 1450.

(38) Jadin F. et Astruc A. — La répartition du manganèse dans le règne végétal. Journ. Pharm. et Chim., 1913, VII, p. 155.

(39) Bertrand G. et Mme Rosenblatt. — Recherches et dosage de petites quantités de manganèse en particulier dans les substances organiques. Bull. Sc. Pharmacologiques, 1911, p. 195, et Bull. Soc. Chim., 1911, IX, p. 361.

veau sans dépasser le rouge sombre. Les sulfates étant moins solubles que les chlorures, les dernières traces de charbon ont disparu alors facilement et tout le manganèse est passé à l'état soluble. Les cendres sulfatées sont dissoutes dans l'acide azotique au 1/3, transformées en permanganate au moyen du persulfate de potassium en présence d'azotate d'argent et amenées à un volume déterminé par addition d'acide azotique au tiers.

Pour le dosage colorimétrique une solution mère est préparée renfermant 4 gr. 054 de sulfate de manganèse ($MnSO^4$, $4H^2O$) soit 1 mmgr. par cm^3.

Une série de tubes est établie alors en présence de persulfate de potassium, de nitrate d'argent, d'acide azotique et portée à l'ébullition. Le tube contenant le manganèse à doser est comparé à la gamme colorée (teinte rose). Cette méthode est d'une sensibilité extrême; mais elle ne réussit qu'avec des solutions extrêmement diluées en manganèse, sans cela il se forme du bioxyde de manganèse qui est brun-jaunâtre. Nous avons décelé 0,00012 gr. de manganèse pour 100 gr. de splénine, ou 0.00852 gr. en oxyde de manganèse (MnO).

9. DOSAGE DU TITANE

Le titane est très diffusé dans la nature (40).

Le dosage et la recherche du titane dans la solution sulfurique des cendres ont été effectués d'après la méthode de Weller (41), basée sur la réaction de Schön (42), c'est-à-dire sur la transformation du titane en acide pertitanique, de couleur jaune-orangée, au moyen du peroxyde d'hydrogène et l'intensité de la coloration est comparée à celle d'une solution étalon. 5 gr. de rate ont été calcinés dans une capsule de platine. Pour volatiliser tout

---

(40) Bertrand G. et Mme Voronca-Spirt. — Recherches sur la présence et la répartition du titane dans les plantes phanérogames. Bull. Soc. Chim. 1929, XLV, p. 1044.

(41) A. Weller. — Recherche et dosage du titane. Berichte der chem. Gesellsch., 1882, XV, p. 2592.

(42) Schön. — Ueber das Verhalten des Wasserstoffsuperoxyds zu Molybdän- u. Titansäure. Zs. für analyt. Chemie, 1870, IX, p. 41, 330.

le silicium on reprend les cendres par quelques cm³ d'eau, additionnés d'acide sulfurique et d'acide fluorhydrique concentré et l'on évapore à sec au B. M. On chauffe le résidu sur une petite flamme avec quelques cm³ d'acide sulfurique concentré jusqu'à production de fumées épaisses. Après refroidissement, le contenu de la capsule est repris par de l'acide sulfurique dilué et transvasé dans une fiole jaugée de 50 cm³.

La dissolution n'a pas été complète, un léger trouble s'est produit qui est dû probablement au sulfate de calcium.

D'après Walton (43), et Faber (44), l'acide phosphorique empêche la réaction du peroxyde d'hydrogène. G. Bertrand et Mme Voronca-Spirt le contestent. Les sels de fer, par contre, gênent la détermination du titane en donnant d'eux-mêmes une coloration jaune. On pare à cet inconvénient en transformant les sels ferriques en complexes incolores par addition convenable d'une solution de phosphate acide de potassium titrée (à 0,25 de sel par cm³). On ajoute cette liqueur à la solution acide des cendres, colorée en jaune, jusqu'à décoloration et l'on en tient compte en ajoutant à la solution de titane titrée qui sert de terme de comparaison.

Pour le dosage colorimétrique on prépare une solution étalon, on dissout 0 gr. 25 d'oxyde de titane dans un litre d'acide sulfurique à 5 % en chauffant et on ajoute de l'acide fluorhydrique pour faciliter la dissolution.

On verse des volumes croissants et connus dans des tubes contenant la même quantité d'acide phosphorique à l'état de phosphate acide de potassium qui se trouve dans la solution de cendres étudiée. On ajoute 1/2 cm³ d'eau oxygénée et l'on complète avec de l'acide sulfurique à 5 %. D'autre part, on filtre la solution de cendres à travers un filtre préalablement lavé avec quelques cm³ d'acide sulfurique à 5 %, on ajoute à un volume connu 1/2 cm³ d'eau oxygénée pure (100 vol.) et l'on complète à un volume déterminé avec de l'acide sulfurique à 5 %.

---

(43) Walton. — Zs. für analyt. Chemie, 1871, IX, p. 41 et 330.

(44) Faber. — Die kolorimetrische Bestimmung des Titans und ihre Anwendbarkeit neben Eisen. Chem. Zeitung 1907, p. 263.

La coloration jaune apparaît immédiatement. La méthode est très sensible.

Nous avons constaté ainsi que 100 gr. de la poudre de rate renferment 0 gr. 001 en oxyde de titane (TiO^2).

10. DOSAGE DU SOUFRE

Nous avons dosé le soufre total à l'état de sulfate de baryte. Pour cela la matière organique d'un gramme de notre extrait est détruite avec un mélange d'acide nitrique fumant, d'acide perchlorique et d'eau distillée selon la méthode indiquée pour le dosage du sodium.

La présence d'acide nitrique et d'acide perchlorique peuvent gêner la précipitation; on les élimine en évaporant la solution limpide à sec avec de l'acide chlorhydrique au B.-M. On redissout le résidu par 1 cm^3 d'acide chlorhydrique, étend la solution par de l'eau distillée et précipite les métaux trivalents par un excès d'ammoniaque. On verse dans le filtrat très dilué suivant la technique de Hintz et Weber (45) un jet d'une solution normale de chlorure de baryum. On filtre après un repos de 12 heures, on lave le précipité par l'eau bouillante jusqu'à ce que les eaux de lavage ne précipitent plus par l'azotate d'argent (NO^3Ag), calcine et pèse. Le poids de sulfate de baryum trouvé : 0,0652 multiplié par 0,42043 donne la quantité d'acide sulfurique (SO^4H^2) contenue dans la prise d'essai (1 gr.); en multipliant par 0,34326, on exprimerait les résultats en anhydride sulfurique (SO^3); par 0,1375, on les exprimerait en soufre (S).

La poudre de rate étudiée renferme 1,4312 % d'acide sulfurique (SO^4H^2) ou 0,8965 % de soufre (S).

11. DOSAGE DU PHOSPHORE TOTAL

Nous avons dosé le phosphore à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien ($PO^4Mg\ NH^4$) en calcinant ce précipité selon la technique indiquée par Woy (46).

---

(45) Treadwell F.-P. — Kurzes Lehrbuch der analyt. Chemie, Leipzig 1923, p. 399.

Denigès F. — Précis de Chimie analytique, Paris 1931, II, p. 31.

(46) Treadwell F.-P. — Kurzes Lehrbuch der analytischen Chemie, II, p. 572, Dentike Leipzig und Wien, 1923.

La matière organique de 2 gr. de poudre de rate a été détruite selon la méthode indiquée pour le dosage du sodium, c'est-à-dire avec un mélange d'acide azotique fumant, d'acide perchlorique et d'eau distillée.

On mélange dans un becher la solution phosphorique neutre ou légèrement acidulée par l'acide nitrique, avec de l'azotate d'ammonium et l'acide azotique, on porte à l'ébullition. On fait bouillir dans un autre becher une solution de molybdate d'ammonium et réunit les deux liqueurs. Il se forme du phosphomolybdate d'ammonium jaune. On laisse reposer 1/4 d'heure. On décante la solution surnageante par filtration; on lave le précipité, et on le redissout dans de l'ammoniaque à 8 %. On ajoute à nouveau de l'azotate d'ammonium et du molybdate d'ammonium, on porte à l'ébullition; on ajoute goutte à goutte de l'acide azotique, il se forme immédiatement un précipité, il est alors pur, de composition $(NH^4)^3PO^4$, $12MoO^3$, 2 HNO^3, H^2O. On filtre, lave le précipité avec de l'eau qui contient 1/20 de son volume de réactif molybdique. On filtre sans chercher à entraîner le précipité sur le filtre; on redissout avec de l'ammoniaque la portion contenue dans le filtre en faisant tomber la liqueur ammoniacale sur la portion principale du précipité. On ajoute après dissolution de la mixture magnésienne et de l'acide tartrique. Pour finir on additionne de quelques gouttes de phénolphtaléine et de la solution ammoniacale jusqu'à apparition d'une teinte rose, puis on complète par 1/5 de son volume d'ammoniaque concentré. On filtre, on dessèche et calcine le précipité (PO^4MgNH^4) dans un creuset en platine. On a ainsi du pyrophosphate de magnésium. Le poids ainsi obtenu multiplié par le coefficient 0,6396 donne la quantité d'anhydride phosphorique (P^2O^5) correspondant à la prise d'essai; si on multiplie par 0,8534 on a la quantité de PO^4 et en multipliant par 0,287 le phosphore total. Nous avons constaté que 100 gr. de rate renferment 4,361 d'acide phosphorique (PO^4H^3) ce qui correspond à 1,380 gr. de phosphore total (P).

Dans le métabolisme qui se passe dans l'intimité de nos tissus nous ne savons pas à quel radical azoté ou hydrocarboné

les différents métaux sont combinés. Nous ne savons pas non plus comment les métaux sont soudés dans les produits de décomposition intraorganique. Aussi nous pouvions calculer nos résultats empiriquement en rapportant le poids des métaux à leur oxyde le plus habituel et les métalloïdes à leur acide correspondant. Nous n'estimons pas les chiffres trouvés pour les cendres, en valeur absolue, parce qu'une partie du soufre et du phosphore doit nécessairement disparaître pendant l'opération.

Il faut remarquer la richesse particulière de la rate en fer et en potassium. Dans le tableau suivant, nous donnons les résultats obtenus:

Composition de la rate de porc pour 100 grammes d'organe sec

Eau distillée (H^2O)	9,3
Cendres solubles	3,38
Cendres insolubles	3,23
Cendres totales	6,61
Alcalinité	0,975
Chlorure de sodium (NaCl)	0,99
Oxyde de sodium (Na^2O)	1,296
— potassium (K^2O)	4,157
— calcium (CaO)	0,033
— magnésium (MgO)	0,179
— fer (Fe^2O^3)	0,942
— manganèse (MnO)	0,008
— titane (TiO^2)	0,001
Acide sulfurique (SO^4H^2)	1,431
— phosphorique (PO^4H^3)	4,361
— chlorhydrique (HCl)	0,617

DOSAGE DES LIPIDES.

On désigne sous le terme « lipides », les matières grasses et les éthers-sels possédant des propriétés analogues (lécithines, phosphatides). Ces corps sont extrêmement répandus dans les tissus et dans les humeurs. André Mayer et G. Schaeffer (47) ont montré que le rapport de cholestérine aux acides gras ou coefficient lipocytique est caractéristique de l'organe considéré et que la teneur d'un parenchyme en acides gras et cholestérine varie peu, de sorte qu'il y a une constante lipocytique.

On suppose à la rate un rôle prépondérant dans la formation de la cholestérine et du métabolisme énergétique des graisses, il était donc intéressant de chercher quelle était la teneur de notre échantillon en acides gras et en cholestérine. Pour cela nous avons suivi la technique de Lemeland (48) en opérant sur quatre grammes de poudre.

A. — EPUISEMENT PAR L'ALCOOL A 95° dans l'appareil de Kumagawa-Suto.

MM. Terroine (49) et Lobstein (50) ont prouvé que l'appareil de Kumagawa-Suto a de grands avantages sur celui de Soxhlet pour extraire les lipides des tissus d'animaux. En effet la cartouche qui renferme la poudre à épuiser est placée directement dans

(47) Mayer A. et Schaeffer G. — Recherche sur la teneur des tissus en lipoïdes. Journ. de Physiologie et Pathologie générale, 1913, XV, p. 510, 534, 775.

(48) Lemeland M.-P. — Recherches chimiques et physiologiques sur les matières grasses et les lipoïdes du sang. Bull. Soc. Chim. biol., 1921, III, p. 163 et dito 1923, V. p. 111.

(49) Terroine F., Lesage G., Véhot G. et Wolff H. — La détermination des matières grasses dans les produits végétaux. Annales des falsifications, 1927, p. 793.

(50) Lobstein E. — Recherches biochimiques sur le Bacille tuberculeux. Thèse Doctorat ès-Sc., Strasbourg 1922.

les vapeurs mêmes du solvant et l'épuisement se fait donc à la température d'ébullition de celui-ci.

La poudre est placée dans la cartouche d'un appareil de Kumagawa-Suto et macérée dans l'alcool à 95° à froid pendant 12 heures; puis épuisée par l'alcool à 95° bouillant pendant 8 heures. La durée du chauffage est largement suffisante, car au bout de 4 heures, l'alcool siphonnant était décoloré et après 6 heures ne laissait aucune trace de résidu après évaporation. Les solutions alcooliques sont réunies, évaporées à sec sous pression réduite à une température ne dépassant pas 60°. L'extrait alcoolique est de couleur brun-foncé.

B. — SAPONIFICATION DE L'EXTRAIT ALCOOLIQUE

Ce dernier est traité dans le ballon extracteur par 25 cm^3 de potasse alcoolique 2 N et chauffé pendant 2 heures au réfrigérant à reflux sur un bain de sable. On cesse de chauffer et on abaisse le titre alcoolique à 50° environ en ajoutant 20 cm^3 d'eau distillée. On chauffe de nouveau jusqu'à clarification complète et on laisse refroidir.

C. — EXTRACTION DE L'INSAPONIFIABLE

On fait passer tout le liquide dans une ampoule à décantation et on rince le ballon rigoureusement avec de l'alcool à 50°. La solution est épuisée ensuite à trois reprises avec de l'éther de pétrole à P.E. inférieur à 70° en utilisant successivement: 100,75 et 50 cm^3 du solvant. L'insaponifiable total passe dans l'éther de pétrole et les savons restent dans la solution hydroalcoolique. On laisse reposer après chaque agitation et on recueille les solutions éthérées dans une autre ampoule qu'on lave avec 100 cm^3 d'eau distillée. Pour cela on n'agite que très légèrement, on évite ainsi la formation d'émulsions. L'eau est séparée et ajoutée à la solution hydroalcoolique pour éviter toute perte d'acides gras. La solution éthérée est distillée à sec au B.M., dans le vide à une température inférieure à 50° et on reprend le résidu avec l'éther de pétrole anhydre P.E. inférieur à 50°. On filtre sur amiante dans un petit vase taré pour séparer les impuretés, évapore dans le vide à 50° jusqu'à poids constant. Cet insaponifiable

total est constitué par la cholestérine et les lipides X insaponifiables.

D. — DOSAGE DE LA CHOLESTERINE

Nous avons employé pour le dosage de la cholestérine la méthode pondérale de Windaus qui est basée sur la formation d'un complexe digitonine-cholestérine.

L'insaponifiable est dissous dans 10 cm^3 d'alcool absolu, on fait bouillir une minute et on ajoute 15 cm^3 d'une solution de digitonine à 1 % dans l'alcool absolu (51). On porte de nouveau à l'ébullition pendant une minute, on ajoute 2 cm^3 5 d'eau distillée, ce qui abaisse le titre d'alcool entre 95 et 90°. Le précipité blanc ainsi formé est recueilli sur un filtre taré, après un repos de 24 heures. On le lave plusieurs fois à l'alcool à 95°, puis avec de l'éther anhydre, on sèche à l'étuve à 110° jusqu'à poids constant et on pèse. En multipliant par 0,2431, on obtient le poids de cholestérine contenu dans la prise d'essai.

E. — EXTRACTION DES ACIDES GRAS ET DOSAGE DU SAPONIFIABLE

Le liquide hydroalcoolique qui reste après la séparation de l'insaponifiable est acidulé par de l'acide chlorhydrique étendu au tiers en présence de tournesol comme indicateur. Les acides gras ainsi libérés se trouvant dans une solution alcoolique dont le titre a été abaissé par l'acide et l'eau à 25° environ passent facilement dans l'éther de pétrole à P. E. inférieur à 70°. On fait trois épuisements, successivement par 100 cm^3, 75 cm^3 et 50 cm^3 de solvant. Puis les extraits éthérés sont lavés avec précaution à l'eau distillée pour enlever l'acide entraîné et évaporés à sec dans le vide. Le résidu est repris par l'éther de pétrole distillant au-dessous de 50°; on filtre dans un petit ballon taré, on évapore dans le vide. On sèche dans le vide à la température de 50° jusqu'à poids constant. On a ainsi le poids d'acides gras.

---

(51) 1° D'après Lemeland, la quantité de digitonine employée doit toujours être en excès. Les quantités que nous indiquons permettent de précipiter 45 mgr. au maximum. — 2° L'alcool filtré est recueilli pour récupérer la digitonine.

Caractères des acides gras

On procède aux déterminations suivantes :

1° *Point de fusion* (déterminé au moyen d'un tube effilé) : 40°,6.

2° *Indice d'iode:* (Méthode de Hübl). Cet indice exprime le poids d'iode que l'on peut, dans des conditions déterminées, fixer sur 100 gr. de corps gras (en présence de bichlorure de mercure $HgCl^2$). La détermination se fait par rapport à un témoin qui ne contient pas de corps gras.

Moyenne des chiffres trouvés: 68.

3° *Indice de saponification: ou indice de Koettstorfer.*

C'est le poids évalué en milligrammes d'hydrate de potasse qui peut saturer les acides gras d'un gramme de corps gras.

Une quantité connue de matière est pesée dans un ballon. On y ajoute parties égales de solution alcoolique normale de potasse et d'alcool à 95°. Le ballon relié à un réfrigérant à reflux est chauffé au B. M. pendant une heure. On laisse refroidir et on titre l'alcali demeuré libre au moyen d'une solution normale d'acide chlorhydrique. Dans une autre fiole on fait un essai comparatif.

Par différence entre les deux résultats, on a le nombre de cm^3 de la solution normale de potasse nécessaire pour saturer les acides gras. En multipliant ce nombre par 0,056 qui représente la quantité de potasse existant dans un cm^3 de solution de potasse normale, on obtient l'indice de saponification.

Indice de saponification (en moyenne): 213.

4° *Indice d'acidité.* — Il indique le nombre de milligrammes d'hydrate de potasse qui peut saturer les acides gras libres de 1 gr. de substance. Nous nous sommes servis d'une solution de potasse décinormale, d'une solution décinormale d'acide sulfurique et de phénolphtaléine comme indicateur.

Indice d'acidité trouvé: 24,6.

Nous résumons dans le tableau ci-dessous les résultats obtenus pour les lipides sur 100 grammes de poudre de rate:

Acides gras (saponifiables)	6,5
Insaponifiable (cholestérine + insaponifiable non déterminé)	2,07
Extraits totaux	8,57
Cholestérine	1,045
Indice d'iode	68
Indice de saponification	213
Point de fusion des acides gras	40,6
Indice d'acidité	24,6

RECHERCHES DES FERMENTS

(diastases, enzymes)

C. Oppenheimer (52) définit les ferments d'une manière simple; une diastase c'est un catalyseur, c'est-à-dire une substance qui est capable d'accélérer, et non de provoquer, une réaction qui ne se serait produite que très lentement en dehors de sa présence. Les ferments agissent d'une manière spécifique, c'est-à-dire favorisent tel ou tel type de réaction chimique, ou même la transformation particulière d'un corps de structure bien déterminée. Nous savons aujourd'hui que l'analogie des ferments et des catalyseurs minéraux peut être poussée très loin et que le pouvoir fermentaire appartient à des substances minérales qui sont à l'état colloïdal.

Y. Schaeffer (53) résume la nature chimique des ferments par les faits suivants:

« Les ferments sont des corps à poids moléculaire élevé, à l'état colloïdal, diffusant difficilement et donnant avec l'eau des hydrosols; électrolytes amphotères, ils contiennent une fonction acide et une fonction basique et sont formés par l'association d'un support colloïdal et de sels minéraux. »

Lépinois (54), signale la présence dans le tissu splénique d'une catalase et d'une peroxydase. Ciofone et Gallerani (55), ont constaté des ferments amylolytiques, protéolytiques et stéa-

(52) Oppenheimer C. — Die Fermente und ihre Wirkungen, 1913, p. 15.

(53) Schaeffer Y. — Les ferments, 1929, Masson et Cie, Paris.

(54) Lépinois E. — Etude historique, chimique et pharmacologique des principales préparations organothérapiques. Th. Doct. Ph., 1900.

(55) Ciofone et Gallerani. — Académ. de Méd. Turin. Ref. Münch. med. Wochenschrift, 1902, n° 21.

tolytiques. Tamio Tanaka (56) a trouvé que la poudre de rate de porc contient une catalase, une oxydase, une amylase, une glycolase, une inulase, une invertase, une lipase, une uréase, des ferments du genre de la pepsine de la trypsine et de l'érepsine. Il a constaté l'absence de lactase, de desamidase et du ferment glycolytique. Il a fait ses recherches sur une poudre provenant de la maison Rhénania de Hambourg. S. G. Hedin (57) a déterminé la présence de trois enzymes : α Protéase avec un optimum de P_H de 8,8 qui attaque la caséine et la peptone; β Protéase avec un optimum de P_H de 5,4 qui attaque la poudre de rate et la caséine et l'érepsine d'un P_H entre 7,5 et 8,5 qui n'attaque que la peptone des dites substances. L'auteur prétend que ces trois enzymes ne sont dans la rate que sous une forme inactive, mais sont transformées par un acide en une forme active. J. Juschtschenko (58) découvrait la nucléase dans la rate.

Nous avons entrepris la recherche de l'amylase, de la glycogénase, de l'inulase, de l'invertase, de la lactase, de la glycolase, de la nucléase, de la lipase, de la lécithase, de la glycérophosphatase, de la peptase, de la tryptase, de l'éreptase, de l'uréase, de la desamidase, de l'hippuricase, des oxydases, de la salicylase, des peroxydases, de la catalase. Nous y joignons la recherche du glutathion.

I. Diastases des Hydrates de Carbone

Technique. — Nous avons trituré 1 gr. de poudre avec 20 gr. d'une solution à 0,9 % de chlorure de sodium dans un mortier; puis nous avons abandonné le mélange pendant 12 heures, à la température du laboratoire (18-20°) en ajoutant 1 % de toluène. Ensuite nous l'avons centrifugé assez fortement avec la centrifugeuse électrique pendant 30 minutes.

---

(56) Tamio Tanaka. — Zur Kenntnis der Milzenzyme. Bioch. Zeitschr., 1911. XXXVII, p. 249.

(57) Hedin S. G. — On the proteolytic enzymes of the spleen. Journ. of. biol. chem., 1922, LIV, p. 177.

(58) Juschtschenko J. — Ueber den Nukleasegehalt verschiedener Organe des Menschen und der Tiere. Bioch. Zeitschr., 1911, XXXI, p. 78.

1. *Amylase.*

Cette diastase a le pouvoir de transformer l'amidon par un processus hydrolytique en maltose et dextrine.

Ciofone et Gallerani (59) ont établi la présence de l'amylase dans la rate de l'homme. Hirata (60), a constaté une diastase qui saccharifie l'amidon dans la rate du chien, du chat, du cochon d'Inde, de la poule, des poissons, de la grenouille et du rat. Nous avons pu le confirmer pour la poudre de rate provenant du porc. Comme pour l'extraction avec la solution physiologique, beaucoup de matières qui donnent la réaction du biuret passent dans l'eau, nous avons essayé de séparer les diastases de ces éléments par une précipitation avec une solution colloïdale d'oxyde de fer (Fe^2O^3) à 5 % (Ferrum dialysatum Siegfried A.G.). (61). Nous avons suivi la méthode de W. Löb et S. Gutmann (62). Ces au-

---

(59) Ciofone et Gallerani : l. c.

(60) Hirata G. — Ueber die Mengenverhältnisse der Diastase in einzelnen Organen verschiedener Tierarten. Bioch. Zeitschr., 1910, XXVII, p. 385.

(61) *Préparation du fer dialysé.*

Pour la préparation de l'oxyde de fer pour la désalbumination des liquides biologiques nous recommandons le mode opératoire indiqué par Fabre et Penau (63). Ils se sont servis d'un dialyseur rotatif, décrit par MM. Astruc et Canals (64), assurant l'agitation du liquide à purifier. 100 cm^3 de perchlorure de fer officinal sont additionnés petit à petit à 40 gr. de bicarbonate de potasse pulvérisé, suivant la méthode prescrite. On dialyse contre l'eau bidistillée pendant 3 jours en remplaçant l'eau toutes les 3 ou 4 heures. On obtient ainsi en quelques jours une solution diluée de fer colloïdal contenant environ 1,25 % d'oxyde de fer (Fe^2O^3).

Il est facile de concentrer cette solution par ultra-filtration au moyen par exemple de l'ultra-filtre Fouard. On reçoit rapidement une liqueur sirupeuse au titre que l'on désire.

(62) Löb W. et S. Gutmann. — Zur Kenntnis der Enzyme der Ovarien. Bioch. Zeitschr., 1912, XXXXI, p. 445.

(63) Fabre R. et Penau H. — Sur un procédé de dialyse rapide et son application à la préparation de l'oxyde de fer dialysé.

Journ. Pharm. et Chimie [8], 1926, III, p. 100.

(64) Astruc A. et Canals E. — Sur un dialyseur rotatif. — Journal de Pharmacie et Chimie [8], II, juillet 1925.

teurs démontrent que le pouvoir amylasique des filtrats augmente d'abord avec les quantités croissantes de solution de fer. Mais si les filtrats ne montrent plus la réaction du biuret, chaque addition de cette solution colloïdale fait décroître le pouvoir amylasique des filtrats.

Nous avons opéré de la façon suivante, et directement sur la poudre de rate. (Löb et Gutmann, pour leurs recherches ont isolé les ferments. Nous n'avons pas trouvé leur méthode opportune, car il faut supposer que la concentration des différents ferments dans l'organe est grande. En présence de quantités relativement petites de ferments, un essai peut échouer sans que l'on puisse affirmer que le ferment en question manque totalement dans la rate.) Nous ajoutions donc 2 cm^3 de la solution colloïdale d'oxyde de fer à 10 cm^3 du filtrat provenant de la solution centrifugée après une macération de 12 heures avec la solution physiologique et 1 cm^3 d'une solution de sulfate de magnésie à 0,5 % et 7 cm^3 d'eau distillée. Le filtrat était légèrement jaune et complètement limpide. 10 cm^3 de ce filtrat ont été mélangés avec 40 cm^3 d'une solution d'empois d'amidon à 0,5 % et 1 % de toluène. Nous avons fait agir ce mélange à l'étuve à 37° pendant 24 heures. En même temps, nous avons pratiqué des essais de contrôle une fois en remplaçant l'empois d'amidon par l'eau distillée et une autre fois sans l'extrait de rate, dans les mêmes conditions. Nous avons pu constater la formation de sucre tant par la liqueur cupro-alcaline, que par la formation d'osazone. Pour le dosage ainsi que dans tous les cas suivants, où nous ne remarquons autre chose, nous avons filtré 5 cm^3 et avons appliqué la méthode de réduction de G. Bertrand (65) au dosage de petites quantités de sucre. L'oxyde cuivreux formé par l'action de la solution de sucre sur une solution alcaline d'oxyde de cuivre, est traité par une solution acide de sulfate ferrique. Le sel ferrique est transformé en sel ferreux et ce dernier est dosé par le permanganate de potassium. Nous nous sommes servis du reste pour la recherche des osazones. Pour 10 cm^3 du filtrat de la solution venant de

(65) G. Bertrand. — Le dosage des sucres réducteurs. Bull. Sc. Pharmacol., 1907, p. 7.

l'étuve à 37° nous ajoutions 0 gr. 25 de chlorhydrate de phénylhydrazine et 0,50 gr. d'acétate de sodium. Nous chauffions une heure juste au B. M. bouillant. La formation d'osazone nous donnait après refroidissement une image claire et même quantitativement appréciable du pouvoir amylasique.

Tous ces essais ont été exécutés en série. Nous donnons dans un tableau un résultat pour chaque essai sans faire les calculs pour la quantité de poudre de rate mise en oeuvre.

N°	Composition du mélange		Cu^2O gr.	Formation d'osazone
1	Solution d'empois d'amidon à 5 %	40,0		
	Extrait de rate (1:20)	10,0	0,055	abondante
	Toluène	0,5		
2	Eau distillée	40,0		
	Extrait de rate (1:20)	10,0	0,0025	rien
	Toluène	0,5		
3	Solution d'empois d'amidon	40,0		
	Eau distillée	10,0		
	Toluène	0,5	0,002	rien

Ces résultats nous démontrent que la poudre de rate contient de l'amylase. Enfin pour avoir une idée approximative de la teneur de la poudre de rate en amylase, nous nous sommes servis de la méthode de Wohlgemuth (66). 1 gr. de la poudre a été trituré avec 30 cm^3 d'une solution à 0,9 % de chlorure de sodium pendant une heure. Après centrifugation, nous recueillons 25 cm^3 de liquide, 1 cm^3 de ce filtrat parfaitement limpide, dilué avec de l'eau, pour avoir 10 cm^3, a suffi pour saccharifier 2 cm^3 5 d'une solution d'empois d'amidon à 1 % en 30 minutes, soit pour 24 heures à la température de 37° le pouvoir diastasique: 2.400. Cette quantité en amylase est relativement petite,

(66) Wohlgemuth J. — Ueber eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Fermentes. Bioch. Zeitschr., 1908, IX, p. 1.

si l'on considère le résultat obtenu dans les mêmes conditions avec le pancréas qui est de 21,500 pour les 24 heures (67).

2. *Glycogénase*

Musculus et von Mehring (68) ont trouvé que les diastases agissent de la même façon sur l'amidon et le glycogène. On pouvait donc s'attendre à un résultat positif dans la recherche de la glycogènase. Nous avons mené les essais de la même façon que pour l'amylase en remplaçant l'amidon par le glycogène et nous nous sommes rendu compte que la poudre de rate contient de la glycogénase, c'est-à-dire peut hydrolyser le glycogène. Voici les résultats :

N°	Composition du mélange		Cu^2O gr.	Formation d'osazone
1	Glycogène	0,2		
	Extrait de rate (1:20)	10,0		
	Eau distillée	40,0		
	Toluène	0,5	0,029	abondante
2	Extrait de rate (1:20)	10,0		
	Eau distillée	40,0	0,011	rien
	Toluène	0,5		
3	Glycogène	0,2	0,012	rien
	Eau distillée	50,0		
	Toluène	0,5		

3. *Inulase*

Elle a le pouvoir de transformer l'inuline en d-fructose. L'inuline appartient aux hydrates de carbone difficilement atta-

(67) W. Löb et S. Gutmann. — Loco citato.

(68) Musculus et V. Mehring. — Ueber die Umwandlung von Stärke und Glycogen durch Diastas, Pancreas, Speichel und Leberferment. Zeitschr. für physiol. Chem., 1879, II, p. 403.

quables comme l'ont démontré les recherches de Komanos (69), Richaud (70), Portier et Bierry (71). Nous avons utilisé la même technique que pour l'amylase, mais l'inuline étant très peu soluble est difficilement attaquable et nous avons prolongé le temps d'action à l'étuve à 5 jours. Nous n'avons pas réussi à obtenir d'osazones cependant nous avons pu constater la présence de traces d'inulase.

N°	Composition du mélange		Cu^2O gr. après 3 jours	Cu^2O gr. après 5 jours
1	Extrait de rate (1:20)	10,0		
	Inuline	0,5	0,0045	0,0048
	Eau distillée	40,0		
	Toluène	0,5		
2	Extrait de rate (1:20)	10,0		
	Eau distillée	40,0	0,0023	0,0023
	Toluène	0,5		
3	Inuline	10,0		
	Eau distillée	40,0		
	Toluène	0,5	0,0032	0,0036

Ces chiffres nous démontrent que le pouvoir inulasique de la poudre de rate est extrêmement faible et même douteux.

4. *Invertase*

L'invertase dédouble le saccharose en d-glucose qui dévie à droite la lumière polarisée et en d-fructose avec une déviation polarimétrique à gauche. Comme cette dernière déviation est

(69) Komanos. — Ueber die Verdauung des Inulins und seine Verwendung beim Diabetes mellitus. Thèse Méd. Strasbourg 1875.

(70) Richaud A. — Sur quelques points relatifs à l'histoire physiologique de l'inuline chez les animaux. C. R. Soc. Biol., 1900, VII, p. 416.

(71) Portier et Bierry. — Recherches sur l'influence de l'alimentation sur les sécrétions diastasiques. C. R. Soc. Biol., LIII, p. 810.

plus forte, le mélange est lévogyre; c'est le sucre interverti. Oppenheimer a trouvé de l'invertase dans la rate, par contre T. Tanaka, Löb et Gutmann nient ce fait. Par nos essais nous pouvons confirmer ces indications affirmatives:

N°	Composition du mélange		Cu^2O en gr. après 2 jours	Cu^2O en gr. après 4 jours	Formation d'osazone
1	Extrait de rate (1:20)	10,0	0,011	0,015	abondante
	Saccharose	0,25			
	Eau distillée	40,0			
	Toluène	0,5			
2	Extrait de rate (1:20)	10,0	0,0008	0,001	rien
	Eau distillée	40,0			
	Toluène	0,5			
3	Saccharose	0,25	0,0030	0,0038	rien
	Eau distillée	50,0			
	Toluène	0,5			

5. *Lactase*

C'est aussi un ferment spécifique qui agit seulement sur le lactose en le dissociant en d-glucose et en d-galactose.

Nous avons recherché la lactase en faisant digérer la poudre de rate sur une solution de sucre de lait à 1 % à la température de 37°. Nous n'avons pas pu constater d'action, même en prolongeant nos essais pendant 5 jours.

6. *Glycolase*

Cette enzyme peut décomposer le dextrose et le lévulose. Il nous semblait donc intéressant de faire des recherches à ce point de vue. Nous avons eu des résultats tout à fait négatifs, même en utilisant l'action d'oxydants; car d'après Löb (72), c'est une condition nécessaire à la glycolyse normale. Ni avec, ni sans eau oxygénée à 3 %, nous n'avons pu trouver de différence sensible en cuivre réduit entre les trois mélanges. Nos essais avec l'eau oxygénée nous ont permis d'en démontrer la présence après la digestion, ce que nous avons constaté par l'iodure de potassium et l'acide chlorhydrique dilué.

La méthode d'essai a été la suivante : 10 gr. d'extrait sont mis à digérer avec 30 cm^3 d'une solution de glucose

(72) Löb W. — Beiträge zur Glykolise. I. Bioch. Zeitschr., 1910, XXIX, p. 316.

à 5 % et 10 cm³ d'eau oxygénée à 3 %. Nous avons pris 10 cm³ de ce mélange, l'avons déféqué de l'albumine avec le fer colloïdal et le sulfate de magnésie et avons constaté tout de suite le pouvoir réducteur. Nous avons fait digérer le reste pendant 28 heures à l'étuve à 37° et après avoir déféqué, nous avons déterminé le pouvoir réducteur. A la fin des essais, nous avons toujours pu constater une légère augmentation de l'oxydule de cuivre due probablement soit à l'évaporation de l'eau, soit à la décomposition hydrolytique du glycogène présent dans la rate. Nous n'avons jamais constaté une diminution de la quantité de glucose.

N°	Composition du mélange		Cu^2O en gr.		Différences
			Avant la digestion	Après la digestion (48 heures)	
1	Extrait de rate (1:20)	10,0	a. 0,2175	0,2220	0,0045
	Glucose 5 %	30,0	b. 0,1922	0,1986	0,0064
	Eau oxygénée 3 %	10,0			
	Toluène	0,5			
2	Extrait de rate (1:20)	10,0			
	Eau oxygénée 3 %	10,0	0,0012	0,0014	0,0002
	Eau distillée	30,0			
	Toluène	0,5			
3	Glucose 5 %	30,0			
	Eau oxygénée 3 %	10,0	0,2118	0,2773	0,0055
	Eau distillée	10,0			
	Toluène	0,5			

7. *Nucléase*

Ce ferment qui libère le d-ribose des acides nucléiques a été signalé dans la rate fraîche du chien, du cheval et de la vache par Juschtschenko. Nous avons essayé de rechercher l'acide phosphorique ainsi que les bases puriques. Nous avons suivi en général la méthode indiquée par Kan Kato (73). 3 gr. de poudre de rate ont été agités avec 60 cm³ de solution physiologique pendant une heure sur la machine à agiter. Après avoir centrifugé le mélange, nous l'avons filtré; 10 cm³ de cet extrait ont été mé-

(73) Kan Kato. — Ueber Fermente in Bambusschösslingen. Zeitschr. für phys. Chemie, 1911, LXXV, p. 456.

langés avec 10 cm^3 d'une solution à 2% de nucléate de sodium et 0,2 cm^3 de toluène. D'autre part, nous avons mélangé 10 cm^3 de l'extrait de rate, avons porté à l'ébullition pour détruire le ferment soupçonné, avec la même quantité de nucléinate de sodium. Nous avons porté les deux essais à l'étuve à 37° pendant 48 h. Après la digestion, les mélanges ont été bouillis, acidulés et déféqués dans une série d'essais par le fer dialysé, dans une autre par l'acide trichloracétique à 5 %.

Les précipités ont été soigneusement lavés et nous avons précipité l'acide phosphorique par l'ammoniaque et la mixture magnésienne. Le précipité a été abandonné 24 heures, puis filtré, lavé et séché. Ensuite nous l'avons calciné dans un creuset de platine et pesé à l'état de $P^2O^7Mg^2$. La quantité de phosphore ainsi formé était presque la même partout. Aussi dans la recherche des bases puriques nous avons eu des résultats négatifs. Nous avons opéré pour le digestat de la même façon que pour la détermination du phosphore, mais nous nous sommes servis de quantités doubles. Après avoir déféqué le digestat par l'acide trichloracétique, nous avons précipité l'acide nucléinique par l'acide chlorhydrique. Nous avons déterminé dans les deux filtrats la quantité des bases puriques. Nous avons trouvé dans les deux essais à peu près la même quantité d'azote. Rien ne nous autorise donc à conclure à la présence de nucléase dans la poudre de rate.

II. Les ferments des lipides

Par suite des notions récemment acquises sur les lipides le cadre des lipases proprement dites s'est considérablement élargi (74). Il comprend actuellement en outre des lipases les ferments des glycérides, les ferments qui dissocient les éthers gras supérieurs et les éthers de la cholestérine, enfin il convient d'y ajouter les ferments mal connus qui dissocient les éthers de la lécithine et des autres phosphatides, la phosphatase, la chlorophyllase, la tannase, et la sulfatase. Nous nous sommes limités à la recherche de la lipase, de la lécithase et de la phosphatase.

(74) Schaeffer Y. — L. c.

1. *Lipase*

Déjà Ciofone et Gallerani (75) ont trouvé dans la rate une lipase dissociant les glycérides en glycérine et acides gras. Pagenstecher (76) a fait des analyses très détaillées de différents tissus et a donné les chiffres suivants: Augmentation de l'acidité après une digestion d'huile d'olive, calculée sur 10 gr. de matière sèche en soude décinormale:

Poumon,	10,9,
Viande,	3,6,
Cerveau,	8,4,
Rein,	20,3,
Foie,	21,6,
Rate,	29,7 (en moyenne).

Nous avons fait une série d'essais qui permettait de confirmer la présence d'une assez forte quantité de lipase dans la poudre de rate. Pour cela nous nous sommes servis d'une solution aqueuse de monobutyrine à 1 %. Nous avons dosé l'acide butyrique mis en liberté selon la méthode de Hanriot et Camus (77).

Comme pour les recherches précédentes nous avons préparé un extrait de la poudre de rate en faisant macérer notre produit avec de l'eau distillée, de préférence à la solution physiologique de chlorure de sodium.

Après une centrifugation d'une demi-heure, nous avons filtré. Selon les indications du tableau suivant nous avons laissé digérer pendant 24 heures à 37°. Voici les résultats en cm^3 de soude décinormale en prenant la phénolphtaléine comme indicateur :

(75) Giofoni et Gallerani. — L. c.

(76) Pagenstecher A. — Das Vorkommen von Lipasen in Geweben. Bioch. Zeitschr., 1908, XIIX, p. 285.

(77) Henriot et Camus. — Sur le dosage de la lipase. C. R. Ac. Sc., 1879, CXXIV, p. 235.

N°	Composition du mélange		cm³ de N/10
1	Extrait de rate (1:20) Monobutyrine 1 % Toluène IV gttes (24 heures à l'étuve)	10,0 10,0	4,25
2	Extrait de rate (1:20) Eau distillée Toluène IV gttes (24 heures à l'étuve)	10 0 10,0	2,10
3	Monobutyrine 1 % Eau distillée Toluène IV gttes (24 heures à l'étuve)	10,0 10,0	0,3
4	Monobutyrine 1 % Eau distillée Toluène IV gttes (titré tout de suite après avoir mélangé)	10,0 10,0	0,3

2. *Lécithase*

Jusqu'à présent, aucun auteur n'a cité la présence d'une lécithase dans la rate. J. Corper (78) a trouvé dans la rate du chien la lécithine au taux de 6 à 7 %. Or, il nous semblait intéressant de savoir si notre produit contient un ferment dédoublant la lécithine. Pour sa recherche, nous avons préparé par trituration lente de 2 gr. de lécithine pure avec 200 gr. d'eau chaude une émulsion homogène et stable.

Ensuite, nous l'avons divisée en quantités égales dans différents petits Erlenmeyer. Suivant les indications ci-dessous, nous y ajoutions de la poudre bouillie et non bouillie, de l'extrait de rate bouilli et non bouilli et laissions digérer 24 heures à l'étuve à 37°. De même nous avons laissé digérer l'émulsion avec et sans eau distillée et la poudre et l'extrait de rate avec de l'eau. Nous avons titré l'acide formé avec la soude décinormale en présence de phénolphtaléine comme indicateur. Comme la rate contient de la peptone, celle-ci même s'il n'y a pas dissociation

(78) Corper J. — The chemistry of the dog's spleen. Journ. of biol. chem., 1912, XI, p. 27.

de la lécithine fixe de la soude. Mais du fait de la présence de la lécithine, c'est presque le double de soude qui est nécessaire. Les chiffres suivants prouvent clairement la présence d'une lécithase dans la poudre de rate étudiée.

N°	Composition du mélange		Temps de digestion en heures	cm³ N/10
1	Emulsion de lécithine	5,0		
	Poudre de rate	0,5	24	7,25
	Toluène IV gttes			
2	Poudre de rate	0.5		
	Alcool absolu	5,0	24	4,25
	Toluène IV gttes			
3	Extrait de rate (1:20)	10,0		
	Emulsion de lécithine	5,0	24	2,20
	Toluène IV gttes			
4	Extrait de rate	10,0		
	Eau distillée	5,0	24	1,35
	Toluène IV gttes			
5	Extrait de rate (1:20) bouilli	10,0	24	2,27
	Emulsion de lécithine	5,0		
	Toluène IV gttes			
6	Extrait de rate (1:20) bouilli	10,0	—	2,25
	Emulsion de lécithine	5,0		
	Toluène IV gttes			
	(Titré tout de suite après mélange)			
7	Emulsion de lécithine (titré de suite)	5,0	—	0,37
8	Emulsion de lécithine	5,0	24	0,4
9	Emulsion de lécithine	5,0	24	0,2
	Eau distillée	10.0		
	Toluène IV gttes			

3. *Phosphatase*

Ce ferment libère les alcools et l'acide phosphorique des phosphatides. Umeno (80) constata dernièrement la présence de la glycérophosphatase dans la rate du chien. Husler (81), par contre n'a pu trouver que des traces de glycérophosphatase dans

(80) Umeno K. — Studien über Phosphatase. Bioch. Zeitschr., 1931, CCXXXI, p. 347.

(81) Huster J. — Vorkommen einer Glycerophosphatase in tierischen Organen. Bioch. Zeitschr., 1912, IXXXX, p. 1.

la rate. L'acide glycérine-phosphorique est un élément constitutionnel des lipides, spécialement de la lécithine. Il nous semblait donc intéressant de rechercher ce ferment dans la poudre de rate. L'extrait de rate a été préparé de la même façon que pour la nucléase. Nous nous sommes servis de glycérophosphate de sodium, sur lequel nous voulions constater une action fermentaire. Le pouvoir d'hydrolyser le phosphore a été déterminé de la façon suivante: 10 cm^3 des filtrats des mélanges essayés ont été traités par 5 cm^3 d'une mixture ammoniaco-magnésienne. Après un repos de 24 heures le précipité est lavé, séché, calciné dans un creuset en platine et pesé à l'état de pyrophosphate de magnésium ($P^2O^7Mg^2$). Les résultats ont été négatifs.

III. Les Ferments des Protides et leurs dérivés

D'une façon générale, les ferments des protides scindent les molécules entre l'azote et le carbone, alors que les lipases détachent des molécules les restes oxygénés. Suivant les conceptions actuelles les ferments des protides comprennent :

1° *Les protéases,* qui par leur action sur les matières albuminoïdes dédoublent ces derniers en molécules plus simples : albumoses, polypeptides et acides-aminés.

Peptase ou pepsine;

Tryptase ou trypsine;

Papaïne.

2° Les *peptidases* ou *éreptases* qui attaquent le groupement CO-NH donnent comme produits de dédoublement des polypeptides et finalement des acides-aminés.

3° Le *lab-ferment* (présure) ou chymase;

4° La *thrombase,* dont l'existence en tant que ferment est douteuse (Rettger).

5° Les *amidases* comprennent l'*uréase* qui hydrolyse l'urée et le transforme en carbonate d'ammonium; l'*arginase* qui transforme l'arginine en urée et en acide diaminovalérique (ornithine) ; l'*hippuricase* qui par hydradation dédouble l'acide

hippurique en acide amino-acétique (glycocolle) et acide benzoïque; la *guanase* qui a une action analogue sur la guanine.

Plusieurs chercheurs ont affirmé l'influence de la rate sur la digestion. Il nous semblait donc spécialement intéressant de rechercher les ferments protéolytiques. Les ferments du type de la pepsine et de la trypsine paraissent sinon des ferments généraux des cellules, du moins sont très répandus dans les tissus animaux et d'une importance capitale pour la vitalité de la cellule animale.

1. *Peptase*

Pour la recherche de la peptase, nous nous sommes servis de la caséine la plus pure. Nous l'avons fait digérer dans les quantités indiquées ci-dessous de poudre de rate. Après 48 heures les filtrats des mélanges avec la poudre de rate donnaient une réaction acide. L'essai mis en action sans poudre restait neutre. Le filtrat de l'essai principal présentait bien la réaction du biuret, par contre le mélange exempt de caséine et celui sans poudre de rate, mais avec caséine, donnaient très faiblement la réaction du biuret. 10 cm³ des filtrats ont été examinés sous le rapport de l'azote soluble par la méthode de Kjeldahl.

N°	Composition du mélange		cc. N/10 NaOH pour neutraliser 10 cc. du filtrat	SO^4H^2 N/70 pour déterminer l'azote soluble
1	Caséine	0,5		
	Poudre de rate	0,5	1,2	4,35
	Eau distillée	50,0		
	Toluène	0,5		
2	Poudre de rate	0,5		
	Eau distillée	50,0	0 25	1,15
	Toluène	0,5		
3	Caséine	0,5		
	Eau distillée	50,0	0.15	0,45
	Toluène	0,5		

2. *Tryptase*

Elle agit dans le même sens que la pepsine, mais son action va plus loin, alors que la pepsine donne surtout des polypep-

tides, la trypsine transforme les matières albuminoïdes ou bien en polypeptides, plus simples que ceux obtenus avec la pepsine, mais surtout en acides-aminés. D'autre part, tandis que la pepsine n'agit qu'en milieu acide, la trypsine, elle, exige un milieu neutre ou légèrement alcalin. Nous avons préparé dans les conditions prescrites par le Codex (82) pour l'essai d'une pancréatine une série de flacons, 1° avec fibrine; 2° sans fibrine, pour pouvoir déterminer quelle part est attribuée à l'autolyse de la poudre de rate dans le dosage des acides-aminés. Ces derniers flacons contenaient respectivement 60 cm³ d'eau distillée et 0 gr. 20 de poudre de rate.

Le tout est porté au B. M. à 50°, agité de quart d'heure en quart d'heure. Nous observons une dissolution de la fibrine dans le flacon témoin (contenant 0 gr. 20 de Pancréatine Codex) et dans le flacon contenant la poudre de rate. Au bout de 6 heures de digestion nous avons filtré et pratiqué l'essai à l'acide azotique ainsi que le dosage de l'ammoniaque selon la méthode de Yovanovitch.

N°	Composition du mélange		Liquéfact. fibrine	Touche azotique	NaOH N/70
1	Fibrine	2,5			
	Poudre de rate	0,2	+	—	1,35
	Eau distillée	60,0			
2	Fibrine	2,5			
	Pancréatine	0,2	+	—	1,85
	Eau distillée	60,0			
3	Fibrine	2,5			
	Eau distillée	60,0	—	+	0,2

3. *Ereptase*

Pour la recherche de l'érepsine nous nous sommes servis de la méthode de Löb et Higuchi (83). Nous avons agité 3 gr. de poudre de rate dans 300 cm³ d'eau pendant 2 heures à la machine à agiter. Après un repos de 12 heures et filtration,

(82) Codex medicamentarius gallicus, 1908.

(83) Löb W. et W. Higuchi S. — Zur Kenntnis der Placentaenzyme. Bioch. Zeitschr., 1909, XXII, p. 316.

nous avons ajouté une solution à 1 % d'acétate d'uranium aussi longtemps qu'un précipité se formait. Ce dernier a été recueilli sur un filtre, lavé et dissout par addition lente d'une solution de carbonate de soude à 0,2 %. Le liquide a été soumis à une deuxième filtration après un repos de 12 heures. Nous avons pris 50 cm^3 de cette solution et les avons mélangés avec 1 cm^3 d'une solution de peptone de Witte à 1 %. Ce mélange a été divisé en parties égales dans 5 tubes à essais. Nous avons partagé également 50 cm^3 d'une solution de carbonate de soude dans 5 tubes à essais, mais sans addition de peptone. Le tout a été placé à l'étuve à 38°. A intervalles déterminés, nous avons retiré un tube avec peptone, auquel nous avons ajouté de la soude concentrée en excès et de la solution de sulfate de cuivre très dilué (réaction du biuret). Nous avons ajouté aux tubes à essais qui ne contenaient pas de peptone de Witte, 0,2 cm^3 de cette solution à 1 % et avons pratiqué de la même façon la réaction du biuret. Cette comparaison nous permettait de constater la différence d'intensité de la réaction du biuret dans la solution essayée et dans la solution témoin, qui contenait encore toute la quantité de peptone dans le même état. Ainsi nous avons constaté nettement la présence de l'érepsine.

4. *Uréase*

Nous avons confirmé les recherches de Tanaka, concernant la présence d'une uréase qui transforme l'urée en carbonate d'ammonium. Les essais ont été commencés après 3 jours de digestion. Pour la détermination de l'ammoniaque nous nous sommes servis de l'appareil de Yovanovitch. La défécation a été exécutée avec le fer colloïdal.

N°	Composition du mélange		cc. N/70 SO^4H^2 p. la neutralisation de l'ammoniaque pour 10 cc. d'essai	
			après 3 jours	après 4 jours
1	Poudre de rate	3,0		
	Eau distillée	150,0	0,25	0,3
	Toluène	1,0		
2	Poudre de rate	3,0		
	Eau distiliée	150,0	0,9	0,92
	Urée	0,5		
	Toluène	1,5		

5. *Désamidase*

Nous n'avons pas trouvé dans la poudre de rate étudiée un ferment qui dissocie le glycocolle. Nous avons disposé les essais de la même façon que pour l'uréase en remplaçant l'urée par le glycocolle.

N°	Composition du mélange		cc. N/70 SO^4H^2 p. la neutralisation de l'ammoniaque pour 10 cc. d'essai	
			après 3 jours	après 4 jours
1	Poudre de rate	3,0	0,2	0,3
	Eau distillée	150,0		
	Toluène	1,5		
2	Poudre de rate	3,0		
	Glycocolle	0,5	0,35	0,30
	Eau distillée	150,0		
	Toluène	1,5		

Rien ne nous autorise donc à conclure à la présence d'une désamidase.

6. *Hippuricase*

Ce ferment découvert par Schmiedeberg (84), qui le nommait histozyme, transforme l'acide hippurique en glycocolle et acide benzoïque. Il a été trouvé dans le rein, le foie, les muscles, le placenta, et il était intéressant de chercher s'il se trouve dans la rate du porc.

Nous avons suivi la méthode de K. Maeda (85) en dissolvant 0 gr. 4 d'hippurate de sodium dans 20 cm^3 d'eau distillée. Nous avons ajouté un gramme de poudre de rate en agitant

(84) Schmiedeberg. — Ueber Oxyd. und Synth. im Tierkörper, Arch. für experm. Pathol. 1881, XIV, 288, 379 cité par C. Oppenheimer, l. c.

(85) Maeda K. — Fermente in der Placenta. Bioch. Zeitschr., 1923, CXXXXIII, p. 361.

fortement. Après avoir additionné de 2 à 3 cm^3 de toluène, nous avons mis le mélange pendant 4 jours à l'étuve à 38°. Ce temps passé nous avons fait bouillir un instant, refroidi et déféqué au fer colloïdal. Le filtrat tout à fait limpide a été légèrement acidulé par l'acide chlorhydrique et épuisé quatre fois dans une ampoule à décantation avec de l'éther de pétrole (P. E. 60°). Les solutions réunies ont été filtrées et l'éther de pétrole évaporé dans le vide. Il s'est formé au fond du ballon des aiguilles blanches facilement reconnaissables. Au microscope elles ont l'aspect de l'acide benzoïque. Le point de fusion, pris au bain de mercure, affirmait l'identité avec l'acide benzoïque (120-121°). Pour une certitude absolue nous avons fait digérer 0 gr. 4 d'hippurate de sodium avec de l'eau et du toluène sans poudre de rate, puis nous avons suivi exactement le même procédé. Le résultat a été négatif. Cela nous prouve la présence de l'hippuricase dans la poudre de rate.

IV Oxydases, Peroxydases et Catalases

C. Oppenheimer a dit des oxydases qu'elles constituaient l'un des chapitres les plus délicats et les plus difficiles de la chimie des ferments. Nous nous sommes heurtés en effet, au cours de nos recherches, à de sérieuses difficultés en ce qui concerne les oxydases.

1. *Les oxydases*

Oxydent certains phénols en donnant des quinones. N'oublions pas que les éléments minéraux : fer (Warbourg), manganèse (G. Bertrand), cuivre, jouent un rôle fondamental dans ces oxydations, vraisemblablement par la formation de complexes intermédiaires (peroxydes métalliques) absorbant et restituant l'oxygène. Ces éléments minéraux interviendraient donc d'une manière analogue à celle de l'hémoglobine et de la chlorophylle. Y. Schaeffer se demande donc s'il y a lieu de classer ces oxydases parmi les ferments.

a) *Aéroxydases.* — Nous avons fait nos essais avec un extrait de la poudre de rate provenant d'une macération de

quelques heures avec une partie pour 20 cm³ d'eau. Etant donné la coloration brun foncé de cet extrait, un changement de couleur était très difficile à apprécier. Pour cette raison nous avons préparé un extrait limpide et clair en déféquant le filtrat de la macération avec le fer colloïdal. Il va sans dire que les oxydases peuvent être modifiées sinon éliminées par suite de cette opération. Tous nos essais ont été menés avec ces deux extraits. Nous indiquons les résultats obtenus, dans le tableau suivant :

N°	Composition du mélange		Changement de couleurs
—	a) *Pyrogallase*		
1	Extrait de rate (1:20)	10,0	Les deux changeaient de couleurs à peu près en même temps
	Pyrogallol	1,0	
2	Eau distillée	10,0	
	Pyrogallol 1 %	1,0	
	b) *Adrénalase*		
1	Extrait de rate 1:20)	10,0	
	Suprarenium hydrochloric. (1:1000) V gttes		dto
2	Eau distillée	10,0	
	Suprareninum hydrochloric. (1:1000) V gttes		
	c) *Dioxyphénylalaninase*		
1	Dioxyphénylalanine 1 %	1,0	
	Extrait de rate (1:20)	100	dto
2	Eau distillée	10,0	
	Dioxyphénylalanine 1 %	1,0	
	d) *Tyrosinase*		
1	Extrait de rate (1:20)	10,0	
	Tyrosine	1,0	dto
2	Eau distillée	10,0	
	Tyrosine	1,0	

Rien ne nous autorise donc à conclure à la présence d'une aéro-oxydase dans la poudre de rate.

b) *Hydroxydases.* — Un ferment qui a été appelé *Aldéhydase* et qu'on a fait agir pour la première fois sur l'aldéhyde sali-

cylique, a le pouvoir de décomposer cette substance en acide salicylique et alcool salicylique. Il a donc le pouvoir d'oxyder et de réduire en même temps. Batteli (86) l'a trouvé dans la rate. Il nous semblait donc intéressant de le rechercher dans la poudre de rate. Nous avons fait digérer un gramme de poudre avec 10 cm³ d'eau distillée et 1 cm³ d'aldéhyde salicylique pendant 48 heures à 37°. (Ne pas oublier le toluène.) Après ce temps, le mélange a été acidulé, légèrement bouilli et filtré. Le filtrat est concentré au B. M. à la consistance de sirop. On reprend par l'alcool à 96° et l'extrait est filtré. Ensuite on évapore l'alcool; on reprend le résidu par de l'eau et on épuise trois fois avec 10 cm³ d'eau distillée et 1 cm³ d'aldéhyde salicylique pendant la réaction au chlorure de fer. Nous avons fait plusieurs essais et la réaction a été toujours légèrement positive, ce qui n'est pas le cas si l'on n'additionne pas de poudre de rate. La *salicylicase* se trouve donc en petite quantité dans la poudre de rate.

2. *Peroxydases et catalases*

Ces ferments décomposent les peroxydes, l'eau oxygénée en particulier, en libérant l'oxygène atomique actif, capable d'être ensuite fixé par des corps aromatiques (accepteurs) dont l'oxydation indirecte se manifeste par un changement de coloration. La catalase décompose le peroxyde d'hydrogène H^2O^2 en H^2O et O moléculaire, fonctionnant vraisemblablement comme accepteur d'H. Schaeffer prétend qu'il s'agit dans ce cas d'une réaction de défense de l'organisme ayant pour but la destruction des peroxydes qui sont toxiques lorsqu'ils sont en excès.

La poudre de rate décompose une solution d'eau oxygénée rapidement en moussant fortement. Elle bleuit de suite en présence de benzidine ou de gayac. La réaction de peroxydation n'est pas détruite après dessication à 100° pendant trois heures, mais la réaction de catalase n'existe plus. Si nous faisons bouillir la poudre 5 minutes avec de l'eau, les ferments qui décomposent l'eau oxygénée sont détruits; par contre, si nous portons

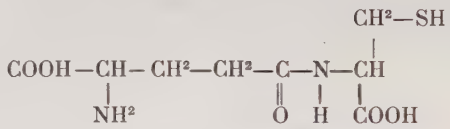
(86) Batelli F. et Stern L. — Die Aldehydase in den Tiergeweben. Bioch. Zeitschr., 1910, IXXX, p. 130.

à l'ébullition avec l'alcool, la catalase seulement a perdu son activité.

Nous avons été très surpris de ne pouvoir trouver d'oxydases, l'action hémolytique de la rate la faisant paraître probable. En effet, les oxydases sont peu stables (87). Les peroxydases par contre, qui sont très répandues chez les plantes et dans les tissus animaux, sont très stables.

V. — RECHERCHE DU GLUTATHION

Ce composé joue un rôle des plus importants dans les réactions d'oxydation et de réduction de l'organisme; la partie cystine passant à l'état cystéine et réciproquement. Il répond à la formule :



Ce dipeptide sulfuré a été l'objet de nombreuses analyses. Blanchetière et Binet (88) par exemple, ont fait une enquête sur la teneur des tissus vivants en glutathion et ont signalé sa présence dans la rate du chien.

Nous avons essayé de la caractériser par la technique de Fabre (89) qui se base sur le fait, que la glutathion donne une réaction colorée avec le nitroprussiate de sodium qui est due à son groupe sulfhydrile.

0.3 cm^3 de la solution trichloracétique de glutathion que l'on obtient par épuisement de la poudre de rate avec de l'acide trichloracétique à 10 %, sont additionnés d'une goutte de solution récente à 5 % de nitroprussiate de sodium. On mélange et fait arriver de l'ammoniaque à la surface du mélange. En cas

---

(87) Moore and Whitley. — The properties and classific of the oxyd. enzymes ecc. Biochem. Jl., 1909, IV, p. 136.

(88) Blanchetière A. et Binet L. — Sur la teneur en gluathion de divers organes du chien C. R. Soc. Biol. 1926, XCIV, p. 494, 1227 et XCV, p. 558, 621, 1098.

(89) Fabre R. — Le glutathion. Journ. Ph. Chim. [8], 1927, p. 219, 245.

de présence de glutathion, un anneau rouge apparaît au contact de l'ammoniaque (sensibilité: 1 mgr. pour 100 cm^3).

Nous n'avons pas réussi à obtenir cet anneau rouge et concluons donc à l'absence de glutathion dans notre échantillon ou à la présence d'une très minime quantité de cette substance.

CONCLUSIONS

En définitive nous avons retrouvé dans la poudre de rate étudiée : une amylase, une glycogénase, une glycolase, une invertase, une lipase, une uréase, une peptase, une tryptase, une éreptase, une catalase et une péroxydase déjà signalées par les auteurs qui nous ont précédés. Par contre, nous n'avons pas mis en évidence l'oxydase, la nucléase, la lactase, la désamidase, la phosphatase, l'inulase qui y ont été signalées. Enfin nous sommes les premiers à avoir reconnu l'existence d'une salicylase, d'une hippuricase et d'une lécithase.

Nous n'avons pas pu identifier le glutathion.

Recherches des protides.

Groll (90) a fait des recherches chimiques sur la rate de l'homme et a trouvé une grande variété en ce qui concerne sa composition en azote et en bases puriques :

	Azote total de l'organe sec	Azote des bases puriques de l'organe sec
Enfants	11,1—12,9 %	0,56—0,91 %
20—55 ans	12,4—13,4 %	0,38—0,64 %
plus de 55 ans	13,1—13,8 %	0,36—0,77 %

Il conclut à une diminution constante en bases puriques entre l'enfance et la vieillesse. Lépinois (91) a étudié la composition de la rate de boeuf :

Substances dosées	Pour 100 gr. de glandes	
	fraîches	sèches
Azote total	3,52	14,05
Azote des matières albuminoïdes	2,82	11,25
Azote extractif	0,70	2,8
Eau distillée	74,95	0
Extrait sec à 105°	25,05	100,0
Sels minéraux	1,16	4,63
Substances organiques	23,89	95,35
Matières albuminoïdes	18,07	72,73
Matières albuminoïdes solubles dans l'eau	7,12	28,42
Extraits éthérés (matières grasses)	1,97	7,86
Matières extractives	3,85	15,36
Azote dégagé par NaBrO (en urée)	0,071	0,283
Fer	0,058	0,230

(90) Groll H. — Chemische und histologische Untersuchungen der Milz. Verhdlgn. deutsch. patholog. Gesellsch., 1927, p. 104, 125. Verhdlgn. deutsch. Gesellsch., innere Medizin, 1928, p. 587, 609.

(91) Lépinois E. — L. c.

Quant à l'extractif, il renferme des dérivés des nucléines (acide urique, xanthine, hypoxanthine, adénine), des lecithines, de la jécorine, de l'inosite, de la taurine de l'acide succinique, de la leucine et de la tyrosine.

I. RECHERCHES QUALITATIVES

Nous nous sommes efforcés de déterminer les principaux groupes auxquels appartiennent les protides contenus dans la rate, en nous basant sur leur solubilité dans divers liquides d'extraction.

Nous avons employé successivement l'eau distillée, une solution aqueuse de chlorure de sodium à 1 % et une solution aqueuse de potasse à 0,2 %. Dans l'eau pure passent les albumines, dans l'eau salée passent les globulines, dans l'eau alcaline passent les alcali-albumines, les nucléo-albumines et les glycoprotéides.

Nous avons opéré de la manière suivante :

Nous avons fait macérer dans 25 cm^3 d'eau distillée 5 gr. de la poudre de rate à la température ordinaire. Après un contact de 24 heures et de nombreuses agitations, nous avons essoré à la trompe et filtré ce macéré.

Le résidu est remis en contact avec 25 cm^3 d'eau distillée pendant 12 heures. On agite à maintes reprises, puis on essore et filtre. Les deux macérés réunis forment l'extrait A. Les deux résidus sont traités chacun successivement par 25 cm^3 d'une solution aqueuse de chlorure de sodium à 10 %. Les extraits salés sont réunis et composent l'extrait B. Ces nouveaux résidus sont épuisés à deux reprises par 25 cm^3 d'une solution de potasse à 0,2 %. Après 12 heures de contact, agitations et filtrations, les filtrats sont réunis en extrait C.

Le tableau ci-dessous résume les réactions obtenues pour les extraits A et B.

I. Réactions de précipitation	*Extrait A.* (Albumines)	*Extrait B.* (Globulines)
a) par les réactifs généraux des alcaloïdes		
Chlorure mercurique 1:20	jaune orangé ppté abondant	brun foncé louche
Ferrocyanure de K + acide	léger ppté vert	léger louche
Iodure de K iodé + acide (Réactif de Bouchardat)	ppté abondant brun-rouge	ppté brun
Acide picrique (Réactif d'Esbach)	très léger ppté	très léger louche
Acide silicotungstique + acide (R. Bertrand)	ppté brunâtre	fort ppté
b) par les dissolvants neutres : Alcool	louche	ppté
c) par les sels métalliques:		
sulfate de cuivre	ppté	ppté
acétate de cuivre	léger ppté	louche
acétate de plomb	fort ppté blanc	ppté
b) Coagulation par les acides minéraux à froid; acide azotique	précipité	précipité
e) Coagulation par la chaleur en milieu acide	Coagul. partielle	Coagulum abond.
II. Réactions de coloration		
a) réaction xanthoprotéique (Noyau aromatique)	positive	positive
b) Réaction de Millon (tyrosine)	positive	ppté grisâtre à froid ne devient pas rougeâtre à chaud (92)
c) Réaction du biuret (albumoses) (peptones)	positive	positive
d) Réaction du soufre (Cystine)	négative	négative

(92) La réaction de Millon est empêchée par la présence du chlorure de sodium.

L'extrait C peut contenir des alcali-albumines, des nucléo-albumines et des glycoprotéides. Pour distinguer entre ces trois sortes de matières albuminoïdes on traite la solution alcaline par de l'acide acétique au dixième. Il se forme un précipité.

1° Une partie de ce précipité délayé dans de l'eau distillée est chauffée à 120-130° à l'autoclave; on ajoute de l'alcali de façon à avoir une réaction très légèrement alcaline et l'on fait réagir cette dernière sur la liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge-orangé d'oxyde cuivreux est l'indice de la présence d'un glycoprotéide.

2° Une autre partie du précipité est desséchée à l'étuve, puis mélangée avec 5 fois son poids d'un mélange d'azotate et de carbonate de sodium. On calcine dans un creuset, on laisse refroidir, on traite le résidu par de l'acide azotique dilué employé en quantité suffisante pour dissoudre complètement le résidu. La solution azotique est enfin traitée par du molybdate d'ammonium; s'il se forme en chauffant légèrement un louche ou un précipité jaune, c'est qu'il y a dans la prise d'essai des nucléo-albumines.

3° Si le précipité ne donne ni la réaction des glycoprotéides, ni celle nucléo-albumines, c'est que ce précipité est constitué par les alcali-albumines.

La recherche des glycoprotéides a été négative tandis que celle des nucléo-albumines et alcali-albumines a donné des résultats positifs.

En résumé, les réactions indiquées sur les extraits A, B et C nous permettent de conclure que la poudre de rate renferme des albumines proprement dites, des globulines, des alcali-albumines et des nucléo-albumines.

II. RECHERCHES QUANTITATIVES

A. — *Destruction de la matière organique*

De nombreux travaux ont été publiés sur le dosage de l'azote par voie humide. Ils ont tous pour principe commun

la transformation de la matière organique azotée en gaz carbonique, ammoniaque et eau, sous l'influence à la fois oxydante et hydrogénante de l'acide sulfurique au voisinage de son point d'ébullition.

Nous avons opéré selon les méthodes :

a) Attaque de la substance par un mélange d'acide sulfurique et d'acide perchlorique (93).

0 gr. 50 de la poudre de rate sont traités dans un matras de Kjeldahl par un mélange de 3 cm³ 5 d'acide sulfurique à 66° B et 6 cm³ 5 d'acide perchlorique (D: 1.615). On ajoute quelques billes de verre pour régulariser l'ébullition et on chauffe lentement jusqu'à désagrégation. La masse noircit et mousse. On chauffe alors à feu nu. La liqueur noire se décolore peu à peu et devient tout à fait limpide. L'apparition des vapeurs blanches d'acide sulfurique nous indique que tout l'acide perchlorique est chassé. L'opération est terminée quand la solution apparaît limpide. La solution acide de sulfate d'ammoniaque obtenue est amenée au volume de 100 cm³. Cette technique exige 24 heures pour obtenir une destruction complète.

b) Attaque de la substance par l'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre (94).

La même quantité d'organe est traitée par 10 cm³ d'acide sulfurique concentré et un tout petit cristal de sulfate de cuivre. La solution apparaît limpide après 8 heures d'attaque. Elle est amenée à un volume de 100 cm³.

c) Attaque de la substance par l'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre et sulfate de potassium (Méthode de F. Pregl [95]).

L'attaque se fait par 10 cm³ d'acide sulfurique concentré et pur en présence d'un cristal de sulfate de cuivre et un autre de sulfate de potassium. Après 3 heures et demie de chauffer

(93) Lematte L., G. Boinot et E. Kahané. — L. c.

(94) Soerensen et Anderson. — Zeitschr. für phys. Chemie, 1905, XXXXIV, p. 429.

on obtient un liquide très légèrement jaunâtre. La solution est amenée à un volume de 100 cm³.

Comme nous verrons plus loin, il y a une très grande différence entre les 3 résultats. Bien que la méthode de Kahane et ses élèves représente un gain de temps considérable, grâce au puissant oxydant qu'est l'acide perchlorique, nous ne pouvons pas la recommander en raison de l'écart constaté en azote. La méthode de destruction la plus favorable est l'oxydation par l'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre et de sulfate de potassium. C'est par ce moyen que nous avons constaté et obtenu les meilleurs résultats.

B. — *Microdosage de l'azote*

Nous avons dosé l'azote dans les solutions de sulfate d'ammoniaque, obtenues dans les trois méthodes différentes, en utilisant l'appareil de Parnas et Wagner (95). L'ammoniaque est déplacé par de la soude à 30 % et est entraîné par un courant de vapeur d'eau. On le reçoit dans un excès connu d'acide sulfurique, N/70 et l'on détermine cet excès par de la soude N/70 en présence de rouge de méthyle (acide para-diméthylazobenzène orthocarbonique) comme indicateur (en solution à 0 gr. 02 dans 100 cm³ d'alcool à 80°) et de

1 cm³ $SO^4 H^2$ N/70 = 1 cm³ Na OH N/70 = 0 gr. 002 N.

Nous avons fait quatre destructions pour chacune des trois méthodes et nous avons effectué sur chacune des solutions quatre microdosages et avons pris la moyenne des résultats trouvés.

Résultats

	Kjeldahlisation avec SO^4H^2+Cu	Kjeldahlisation avec SO^4H^2+ClO^4H	Kjeldahlisation avec SO^4H^2+Cu+K
SO^4H^2N/70 neutralisé en cm³ par 15 cm³ de sulfate d'ammoniaque	16,425 cm³	15,72 cm³	16,75 cm³
Quantité d'azote pour 100 gr. de substance totale	13,14 %	12,57 %	13,4 %

Soit en moyenne 13,03 %

(95) Nicloux M. — La micro-analyse organique quantitative. Bull. Soc. Ch. de France, 1924, XXXV, p. 1041.

Derrien E. et Fontès G. — Chim. biol. médicale, Paris, Baillière et fils, Edit., 1927.

C. — *Dosage de l'ammoniaque*

L'ammoniac est déplacé des solutions ammoniacales par une solution saturée de carbonate de lithium, qui est incapable de produire ce même gaz, aux dépens des autres composés azotés.

En suivant la méthode de Yovanovitch (96) l'ammoniac est entraîné par un courant de vapeur d'eau produit dans le vide à la température de 40° à 50° et capté par une solution d'acide sulfurique N/70 en excès. Après avoir chauffé pour chasser l'acide carbonique, on titre l'excès d'acide sulfurique par la soude N/70 en se servant de rouge de méthyle comme indicateur. Nous avons opéré sur 10 cm³ de la solution de sulfate d'ammoniaque.

100 gr. de poudre de rate renferment 1 gr. 16 d'ammoniaque.

B. — *Dosage des matières albuminoïdes*

Nous nous sommes servis de la méthode de Voït (97) basée sur ce fait que les matières albuminoïdes sont insolubles dans l'alcool à 78 % saturé de sel à une concentration d'acide déterminée 2 gr. de poudre de rate sont placés dans une fiole jaugée de 250 cm³; on ajoute 40 cm³ d'eau distillée et 4 à 5 gouttes d'une solution de tropéoline 00. On verse de l'acide chlorhydrique goutte à goutte jusqu'à coloration rouge, puis 140 cm³ d'alcool à 90°. On laisse reposer 6 heures et après on ajoute 5 cm³ d'une solution de sulfate de soude à 20 %. On complète le volume à 250 cm³ avec de l'alcool et on laisse reposer encore une heure en agitant de temps en temps. On filtre; le précipité renferme des matières albuminoïdes; 50 cm³ du liquide sont soumis à la Kjeldahlisation, après avoir évaporé l'alcool dans le vide. On

---

(96) Yovanowitch A. — Microdosage de l'ammoniaque. Bull. Soc. Chimie biol., 1925, VII, p. 665.

(97) Voit E. — Ein Beitrag zur Bestimmung des Eiweiss-Stickstoffes. Zeitschr. für Biologie, 1926, LXXXIV, p. 153.

Weber F. — Ueber eine Methode zur Bestimmung des Extraktiv-Stickstoffes. Zeitschr. für Biologie, LXXXIV, p. 169.

détruit les matières organiques avec un mélange d'acide sulfurique et d'acide perchlorique et l'on dose l'azote soluble selon la méthode de Parnas et Wagner (98). Le résultat nous indique que l'azote non protéique contenu dans 100,0 gr. de poudre de rate est de 3,17 %.

Cette méthode nous permet de calculer exactement les matières albuminoïdes :

Azote total — Azote soluble = Azote albuminoïde;

Azote albuminoïde × 6,25 = Matières albuminoïdes.

Voici les résultats obtenus :

Substances dosées	Pour 100,0 gr. de rate
Azote total	13,03
Azote soluble	3,17
Azote albuminoïde	9,86
Matières albuminoïdes	61,62
Ammoniaque	1,16

On voit souvent dans les travaux de dosage des protides la teneur en matières albuminoïdes exprimée en multipliant l'azote total par 6,25. Ce chiffre est toujours trop haut, parce que ce calcul de l'azote dans les matières albuminoïdes contient aussi de l'azote qui se trouve sous une forme non albuminoïde.

(98) Parnas J. et Wagner R. — Ueber die Ausführung von Bestimmungen kleiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl. Bioch. Zeitschrift, 1921, CXXV, p. 253.

RECHERCHE DES GLUCIDES.

Les hydrates de carbone forment la partie essentielle des aliments d'origine végétale et jouent un rôle énergétique extrêmement important. Ils font partie de la molécule de certains constituants de l'organisme d'utilité biologique prépondérante, comme les acides nucléiques (dans les noyaux de toutes les cellules) et les galactolipides complexes du cerveau.

Nous avons fait directement un épuisement par l'eau en faisant macérer 10 gr. de poudre de rate dans de l'eau distillée à l'étuve à 37° pendant 48 heures. On additionne le filtrat d'acétate neutre de plomb pour précipiter les acides organiques, les matières colorantes, les matières résineuses, etc. puis un léger excès de sous-acétate de plomb à 10 %. Le filtrat est débarrassé à chaud de l'excès de plomb par un courant prolongé d'hydrogène sulfuré. On sépare le sulfure de plomb par filtration et on lave le filtre à l'eau distillée. On porte la solution à l'ébullition et on neutralise par du carbonate de soude. La solution est alors légèrement brune. On acidule par de l'acide acétique et on met en contact pendant une heure avec une petite quantité de charbon animal afin de parfaire la décoloration. On filtre et on lave le précipité sur le filtre pour dissoudre les sucres qu'il peut retenir. Les filtrats et les eaux de lavages ainsi obtenus sont parfaitement limpides.

On concentre les solutions réunies à basse température sous pression réduite, parce que les sucres deviennent jaunes, même à une température de 100°.

Nous avons essayé de doser dans cette solution concentrée les sucres selon la méthode de G. Bertrand. Le résultat a été négatif.

Ensuite, nous avons recherché les pentoses, les hexoses. Pour cela, nous nous sommes servis des méthodes classiques somme suit :

Réaction de Bertrand
Réaction de Molish } Recherche des pentoses et hexoses.

Réaction de Sélivanoff
Réaction de Rosenthaler } Recherche des sucres cétoniques.

Réaction de Berg
Réaction de Tollens et Rossive } Recherches des sucres aldéhydiques

Formation d'osazone : Rien.

Nous n'avons eu que des résultats négatifs; la rate ne renferme pas de sucres réducteurs.

Cloëtta (99) et Klein (100) ont constaté la présence de l'inosite dans la rate fraîche de boeuf. Il nous semblait donc intéressant de rechercher ce composé organique dans notre extrait, préparé depuis plusieurs mois, et provenant du porc.

Pour cela on alcalinise l'extrait aqueux par la baryte plusieurs fois, puis on l'acidule à chaud par l'acide nitrique. On défèque alors par le sous-acétate de plomb, en milieu ammoniacal. Puis on met en suspension la combinaison plombique dans de l'eau et on la décompose par un courant prolongé d'hydrogène sulfuré. Le filtrat est concentré au B. M. jusqu'à consistance sirupeuse. On ajoute alors trois fois son volume d'alcool absolu, puis un peu d'éther qui favorise la précipitation d'inosite. On filtre et identifie ce cyclo-hexaalcool ainsi isolé par la réaction de Scherrer modifiée par Meillère, en formant des rhodizonates colorés.

---

(99) Cloëtta A. — Ueber das Vorkommen von Inosit im tierischen Körper. Liebigs Annalen der Chemie und Pharmazie, 1856, IC, p. 289.

(100) Klein J. A. — Vorkommen und Herkunft von Inosit im Tierkörper. Thèse Doct. Méd., 1909, Giessen.

Nous n'avons pas réussi à obtenir la coloration rouge, même en modifiant les méthodes prescrites. Nous estimons donc que la rate de porc ne contient pas d'inosite. Même si l'inosite se trouve dans la rate fraîche de porc, il est possible qu'elle soit hydrolysée à la suite de la préparation de l'extrait.

CONCLUSIONS GÉNERALES.

Cette étude chimique de la poudre de rate n'avait pas comme but d'expliquer l'action physiologique de la rate, que nous avons signalée au début de notre travail. D'ailleurs la chimie analytique ne donne que la composition de la substance cellulaire qui abrite les principes actifs : catalyseurs, ferments d'analyses et de synthèses. La physiologie et la clinique peuvent seules nous fixer sur la valeur thérapeutique des préparations opothérapiques.

Il y a pourtant dans toutes les cellules vivantes des séries de matériaux de construction permanents et indispensables : substances minérales, lipides, ferments, matières protéiques, composés nucléiques, phosphatides, etc... dont la présence est constante dans le même tissu vivant et qui, par conséquent, devraient être présents dans la poudre desséchée. Le but à atteindre est d'obtenir une poudre d'organes qui soit la représentation aussi fidèle que possible de l'organe frais et dans laquelle les constituants chimiques du tissu et leur haute activité physiologique ne se trouvent pas atténués. La poudre doit être équivalente à l'organe frais. La teneur en ces substances n'est certes pas rigoureuse pour un même tissu vivant. Elle varie, comme nous l'avons déjà dit, avec les espèces animales et pour une espèce donnée avec certaines circonstances physiologiques; mais ces proportions oscillent entre des limites assez étroites.

Au cours de nos recherches nous avons constaté l'absence de plusieurs éléments, dont la présence a été mentionnée dans les tissus spléniques, nous citons par exemple ces quelques ferments : l'inulase, la lactase, la nucléase, la phosphatase, la désamidase, les oxydases, puis le glutathion et l'inosite.

Nous estimons que ce manque de principes immédiats n'est pas dû à la technique de préparation de notre échantillon. Il est fort possible que ces substances soient altérées ou hydrolysées pendant la période de conservation.

Aussi nous croyons avoir apporté quelques résultats nouveaux sur la composition chimique de la rate en élargissant ainsi les faits pour identifier, essayer, contrôler au point de vue du mode de préparation et de l'état de conservation de la poudre de rate provenant du porc.

Résumons les résultats obtenus :

Matières minérales. — En outre dès métaux : le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium et le fer dont la présence dans la rate a été signalée avant nous, nous sommes les premiers à avoir recherché et dosé deux éléments catalytiques importants : le manganèse et le titane.

La haute teneur en fer s'explique en tenant compte du rôle que joue la rate vis-à-vis des globules sanguins. Aucun organe n'en renferme autant.

En comparant les chiffres trouvés pour le potassium et le magnésium avec ceux d'autres organes, nous constatons que la rate est riche en ces deux métaux.

Concentration en ions hydrogène (P_H). — Le P_H de notre échantillon de rate est de 5,8, c'est-à-dire nettement acide.

Lipides. — La rate est particulièrement riche en cholestérine; c'est la preuve de son action cholestérogène.

Ferments solubles. — Il ressort avec évidence de nos expériences que la rate renferme un grand nombre de ferments dont le rôle est d'une haute importance dans le métabolisme intra-organique.

Nous sommes les premiers à avoir reconnu la présence des ferments solubles suivants : la salicylase, l'hippuricase et la lécithase.

Au cours de nos recherches, certaines méthodes utilisées pour isoler et doser différents éléments organiques et minéraux et en particulier les ferments solubles, nous ont paru insuffisantes et nous les avons modifiées. Nous avons ainsi obtenu de meilleurs résultats.

En ce qui concerne les procédés de destruction de matière organique avec l'aide de différents catalyseurs, nous estimons que le procédé de destruction de ces matières organiques par l'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre et de sulfate de potassium donne les meilleurs résultats.

Vu, *Strasbourg,* le 13 mai 1931.
Le Président du Jury,
Dr E. Laborde.

Vu et approuvé:
Strasbourg, le 14 mai 1931.
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie:
F. Jadin.

Vu et permis d'imprimer:
Strasbourg, le 16 mai 1931
Le Recteur de l'Académie, Président du Conseil de l'Université:
Chr. Pfister.

Bibliographie.

Cette bibliographie comporte pour chaque référence le nom de l'auteur, ou ceux des auteurs, le titre de la publication dans la langue originale, le titre du périodique souvent abrégé et en général trois chiffres correspondant respectivement à l'année, au tome et à la page initiale du tome.

ABELOUS J. E. — La fonction cholestérinogénique de la rate. Arch. int. de Physiol., 1921, XVIII, p. 42.

ASTRUC A. et CANALS E. — Sur un dialyseur rotatif. Journ. Pharm. et Chim. [8], 1925, II., p. 14.

BATTELLI F. und STERN L. — Die Aldehydase in den Tiergeweben. Biochem. Zeitschrift, 1910, XXIX, p. 130.

BAUMÉ. — Eléments de Pharmacie, 1797, p. 77.

BERTRAND G. — Le dosage des sucres réducteurs. Bull. Sc. Pharmacol., 1907, p. 7.

BERTRAND G. et MEDIGRECEANU F. — Recherches sur la présence du magnèse dans la série animale. Bull. Soc. Chimique, 1912, XI, p. 834, 857 et C. R. Acad. Sc., 1912, CLIV, p. 1450.

BERTRAND G. et M^me^ ROSENBLATT. — Recherches et dosage de petites quantités de manganèse en particulier dans les substances organiques. Bull. Sc. pharmacol., 1911, p. 195, et Bull. Soc. Chimique, 1911, IX, p. 361.

BERTRAND G. et M^me^ VORONCA-SPIRT. — Recherches sur la présence et la répartition du titane dans les plantes phanérogames. Bull. Soc. chimique, 1929, XLV, p. 1044.

BINET L. — Idées actuelles sur la physiologie de la rate. Biol. médic., 1927, XVII, p. 365.

BLANCHETIÈRE A. — Sur une méthode de dosage du sodium. Bull. Soc. Chim., 1923, XXXIII, p. 807.

BLANCHETIÈRE A. et BINET L. — Sur la teneur en glutathion en divers organes du chien. C. R. Soc. Biol., 1926, XCIV, p. 494, 1927, et XCV, p. 558, 621, 1098.

BROWN-SÉQUARD. — Des effets produits chez d'homme par des injections sous-cutanées d'un liquide retiré des testicules de cobayes et de lapins. C. R. Soc. Biol., 1889, p. 415.

BROWN-SÉQUARD et D'ARSONVAL. — De l'injection des extraits liquides provenant des glandes et des tissus de l'organisme comme méthode thérapeutique. C. R. Soc. Biologie, 1891, XXXXIII, p. 248, 265.

BYLA, Etabl. — Compendium médical, Paris 1929.

BYLA P. et PÉNAU H. — Les produits biologiques médicinaux, 1921, Maloine et Fils, Edit., Paris.

CARNOT P. — Médicaments animaux. Opothérapie, 1911, Baillière et Fils, Edit., Paris.

Ciofore und Gallerani. — Acad. Méd. Turin. Ref. Münch. med. Wochenschrift, 1902, n° 21.

Clarc. — The determination of hydrogen ions. Williams and Wilkins, Edit., Baltimore, 1922.

Cloetta A. — Ueber das Vorkommen von Inosit im tierischen Körper. Liebigs Annalen der Chemie und Pharmacie, 1856, IC., p. 289.

Codex medicamentus gallicus, 1908.

Copaux H. — Procédé rapide pour doser l'acide phosphorique. C. R. Ac. Sc., 1921, clxxiii, p. 656.

Corper J. — The chemistry of the dog's spleen. Journ. of biol. chem., 1912, xi, p. 27.

Coutanceau P. — Quelques recherches sur les poudres d'ovaires, Thèse Doct. Pharm., Montpellier, 1924.

Denigès G. — Précis de Chimie analytique, 1930-31, Maloine et Fils, Edit., Paris.

Derrien E. et Fontès G. — Chimie biologique médicale, 1927, Baillière et Fils, Edit., Paris.

Faber F. — Die kolorimetrische Bestimmung des Titans und ihre Anwendbarkeit neben Eisen. Chem. Zeitung, 1907, p. 263.

Fabre R. — Les propriétés chimiques et physiologiques des principes endocriniens. Journ. Pharm. et Chim. (8), 1926, p. 13, 27, 114, 168.

Fabre R. — Le glutathion. Journ. Ph. Chim. (8), 1927, V. p. 219, 245.

Fabre R. et Penau H. — Examens chimiques généraux de poudres opothérapiques. Journ. Pharm. Chim. (7), 1923, xxvii, p. 281.
— Sur un procédé de dialyse rapide et son application à la préparation de l'oxyde de fer dialysé. Journ. Pharm. et Chim. (8), 1926, iii, p. 100.

Garola et Braun. — Dosage pondéral de la potasse. Ann. des falsifications, 1917, p. 572.

Gley E. — Les sécrétions internes, 1921, Baillière et Fils, Edit., Paris.

Gorup-Besanez E. — Physiologische Chemie, Vieweg u. Sohn, Edit., 1874.

Grabar P. — Microméthode de dosage du sodium dans les milieux biologiques. Bull. Soc. Chimie biologique, 1929, xi, p. 58.

Groll H. — Chemische und histologische Untersuchungen der Milz. Verhdlg. deutsch. patholog. Gesellsch., 1927, p. 104, 125, et Verhdlg. deutsch. Gesellsch., innere Medizin, 1928, p. 587, 609.

Guillaumin. — Sur la détermination colorimétrique de la concentration en ions H÷ des liquides biologiques. Journ. Pharm. et Chimie (7), 1922, xxv, p. 175, 221.

Hallion L. — La pratique de l'opothérapie, 1911, Masson et Cie, Edit., Paris.

Hedin S. G. — On the proteolytic enzymes of the spleen. Journ. of biol. chem., 1922, lii, p. 177.

Henriot et Camus. — Sur le dosage de la lipase, C. R. Ac. Sc., 1879, cxxiv, p. 235.

Hirata G. — Ueber die Mengenverhältnisse der Diastase in den einzelnen Organen verschiedener Tierarten. Bioch. Zeitschr., 1910, xxvii, p. 385.

Husler J. — Vorkommen einer Glycerophosphatase in tierischen Organen. Bioch. Zeitschr., 1912, xxxix, p. 1.

Jadin F. et Astruc A. — La répartition du manganèse dans le règne végétal. Journ. Pharm. et Chim. (7), 1913, vii, p. 155.

Javillier M. et Allaire H. — Sur le dosage du phosphore nucléique dans les tissus des animaux. Bull. Soc. Chimie biol., 1925, vii, p. 486.

Javillier M. et Allaire H. — Sur l'existence d'un indice de phosphore nucléique des tissus. Bull. Soc. Chimie biol., 1926, viii, p. 924.

Javillier M., Allaire H. et M^lle^ Groc. — Sur un principe nouveau pour l'essai des poudres organothérapiques. Journ. Pharm. et Chimie (8), 1925, i, p. 513.

Javillier M., Allaire H. et M^me^ Hinglais-Groc. — L'analyse des poudres organothérapiques. Leur teneur en phosphore total, lipidique et nucléique. Bull. Soc. pharmacolog. 1925, xxxii, p. 641.

Juschtschenko J. — Ueber den Nukleasegehalt verschiedener Organe des Menschen und der Tiere. Biochem. Zeitschr., 1911, xxxi, p. 78.

Kahane E. — Le dosage de sodium par la méthode à l'uranyle. — Bull. Soc. chimique, 1930, xlvii, p. 382.

Kan Kato. — Ueber Fermente in Bambusschösslingen. Zeitschr. für physiol. Chem., 1911, lxxv, p. 456.

Katz *I.* — Fleischanalysen, Pflügers Archiv, 1896, lxiii, p. 1.

Klein J. A. — Ueber das Vorkommen von Inosit im tierischen Körper. Thèse Doct. Méd. Vét., Giessen, 1909.

Komanos. — Ueber die Verdauung des Inolins und seine Verwendung beim Diabetes mellitus. Thèse Doct. Méd., Strasbourg, 1875.

Kumagawa-Suto. — Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Fette. — Bioch. Zeitschr., 1908, viii, p. 212.

Laquer F. — Hormone und innere Sekretion. 1928, Steinkopff, Edit., Dresden und Leipzig.

Laudat M. — Etudes des méthodes récentes de dosage du sodium et de leur application à la biologie. Bull. Soc. Chimie biol., 1928, x, p. 757.

Lassieur A. — Electrotitrimétrie. Bull. Soc. chim., 1922, xxxi, p. 817.

Lematte L., Benoit G. et Kahane E. — Dosage des minéraux contenus dans les principaux organes utilisés en opothérapie. Journ. Pharm. et Chimie (8), 1927, V, p. 325, 361.

— La composition minérale des tissus de l'homme et des animaux. Bull. Soc. Chim. biol., 1928, x, p. 553.

Lemeland M. P. — Recherches chimiques et physiologiques sur les matières grasses et les lipoïdes du sang. Bull. Soc. Chim. biol., 1921, iii, p. 163, et 1923, v, p. 111.

Lépinois E. — Etude historique, chimique et pharmacologique des principales préparations organothérapiques. Thèse Doct. Pharm., Paris, 1899.

Loeb W. — Beiträge zur Glykolyse, I. Biochem. Zeitschr., 1910, xxix, p. 316.

Lœb W. et Gutmanns. — Zur Kenntnis der Enryme der Ovarien. Biochem. Bioch. Zeitschr., 1912, xxxxi, p. 445.

Lœb W. et Higuchi S. — Zur Kenntnis der Placentaezyme. Biochem. Zeitschr., 1909, xxii, p. 316.

Lobstein E. — Recherches biochimiques sur le bacille tuberculeux. Th. Doct. ès-Sciences, Strasbourg, 1922.

Maeda K. — Fermente der Placenta. Biochem. Zeitschr., 1923, cxxxxiii, p. 361.

Magnus H. — Die Organ- und Bluttherapie, 1906. Kern, Edit., Breslau.

Mayer A. et Schaeffer G. — Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. Journ. de Physiol. et Pathol. générale, 1913, xv, p. 510, 534, 775.

Memento du Chimiste. — Première partie scientifique, Dunod, Edith.

Moore and Whitley. — The properties and classific of the oxyd. enzymes ecc. Biochem. Journ., 1909, iv, p. 136.

Muammer E. — Contribution à l'étude chimique de la glande thyroïde. Th. Doct. Pharm., Strasbourg, 1931.

Musculus und von Mehring. — Ueber die Umwandlung von Stärke und Glykogen durch Diastas, Speichel, Pankreas und Leberferment. Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1879, ii, p. 403.

Nicloux M. — La micro-analyse organique quantitative. Bull. Soc. chimique, 1924, xxxv, p. 1041.

Oidtmann H. — Die anorganischen Bestandteile der Leber und der Milz. 1858, Linnich.

Oppenheimer C. — Die Fermente und ihre Wirkungen. 1913, Leipzig.

Pagenstecher A. — Das Vorkommen von Lipasen in Geweben. Biochem. Zeitschr., 1908, xiix, p. 285.

Parnas J. et Wagner R. — Ueber die Ausführungen von Bestimmungen kleiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl. Biochem. Zeitschrift, 1921, cxxv, p. 253.

Piéri J. et Zuccarelli J. — Physiologie de la rate. Gazette des Hôpitaux, 1923, n° 66, p. 1057.

Portier et Bierry. — Recherche sur l'influence de l'alimentation sur les sécrétions diastasiques. C. R. Soc. Biol., 1901, liii, p. 811.

Rémond, Soula et Colombiès. — Etude pharmacodynamique et clinique sur l'emploi de l'extrait lipidique de rate. Bull. Ac. de Méd., 1927, iiic, p. 106.

Richaud A. — Sur quelques points relatifs à l'histoire physiologique de l'inuline chez les animaux. C. R. Soc. Biol., 1900, lii, p. 416.

Richet Ch. — Rôle de la rate dans la nutrition. C. R. Acide. Sc., 1923, clxxvi, p. 1581.

ROGER G.-H. — Traité de Physiologie normale et pathologique. Sécrétions internes. 1929, IV, Masson et Cie, Edit., Paris.

RUMPF Th. — Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung des Blutes und verschiedener menschlicher Organe in Krankheiten. Mitt. Hamburger Staatskrankenanstalt, 1902, III, p. 1.

SCAGLIARINI G. et PRATESI P. — Méthode rapide de dosage du fer. Ann. chim. applic., 1921, XIX, cité par Bull. Soc. Chim. biol., 1929, XXXXVI, p. 1156.

SCHAEFFER Y. — Les ferments. 1929, Masson et Cie, Edit., Paris.

SCHMIEDEBERG. — Ueber Oxyde und Synthesen im Tierkörper. Arch. für experm. Pathol., 1881, XIV, p. 288, 379, cité par C. Oppenheimer.

SCHOEN. — Ueber das Verhalten des Wasserstoffsuperoxyds zu Molybdaen- und Titansäure. Zeitschr. für analyt. Chemie, 1870, IX, p. 41, 330.

SOERENSEN et ANDERSEN. — Zeitschr. für physikal. Chemie, 1905, XXXXIV, p. 488.

SOERENSEN. — Etudes enzymatiques. C. R. du labor. de Carlsberg, 1909, VIII, livraison I.

STRENG. — Ueber die Ausführung einiger mikrochemischer Operationen und Reaktionen. Zeitschr. für analyt. Chemie, 1885, XXIII, p. 115, et Chem. Centralblatt, 1886, p. 488.

TANAKA T. — Zur Kenntnis der Mizenzyme. Biochem. Zeitschr., 1911, XXXVII, p. 249.

TERROINE E.-F., LEPAGE G., VÉCHOT Y. et WOLFF H. — La détermination des matières grasses dans les produits végétaux. Ann. des falsifications, 1927, p. 79.

TREADWELL F.-P. — Kurzes Lehrbuch der analytischen Chemie. 1923, Deuticke, Edit., Leipzig und Wien.

UMENO K. — Studien über Phosphatase. Biochem. Zeitschr., 1931, CCXXXI, p. 347.

VOIT E. — Ein Beitrag zur Bestimmung des Eiweisstickstoffes. Zeitschrift für Biologie, 1926, LXXXIV, p. 153.

WALTON. — Zeitschr. für analyt. Chemie, 1871, IX, p. 41, 330.

WEBER F. — Ueber eine Methode zur Bestimmung des Extraktivstickstoffes. Zeitschr. für Biologie, 1926, LXXXIV, p. 169.

WELLER A. — Recherche et dosage du titane. Ber. der chem. Gesellschaft, 1882, XV, p. 2592.

WOHLGEMUTH J. — Ueber eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Fermentes. Biochem. Zeitschr., 1908, IX, p. 1.

YOVANOVITCH A. — Microdosage de l'ammoniaque. Bull. Soc. Chim. biol., 1925, VII, p. 665.

TABLE DES MATIÈRES

Avant-Propos 1

PREMIERE PARTIE

Quelques brefs renseignements sur l'Opothérapie 3
Quelques données générales sur la rate 7
1. Histoire de la rate comme médicament opothérapique splénique 7
2. Mode d'action et indications thérapeutiques 7
3. Préparation 7
4. Composition chimique 7
Teneur en phosphore 11
1. Phosphore total 11
2. Phosphore lipidique 12
3. Phosphore nucléique 12
4. Résultats 12
5. Commentaires et conclusions 13
Anatomie et physiologie de la rate 14
1. Structure de la rate 14
2. Fonction de la rate 14

DEUXIEME PARTIE

Détermination du P_H de la poudre de rate 19
Etudes des matières minérales 23
I. Recherches qualitatives 23
II. Recherches quantitatives 23
1. Humidité 23
2. Cendres 24
3. Sodium 25
4. Potassium 25
5. Calcium 27
6. Magnésium 28
7. Fer 28
8. Manganèse 99
9. Titane 30
10. Soufre 32
11. Phosphore 32
Dosage des lipides 35
1. Epuisement par l'alcool à 95° 35
2. Saponification de l'extrait alcoolique 36

3. Extraction de l'insaponifiable 36
4. Dosage de la cholestérine 37
5. Extraction des acides gras et dosage du saponifiable .. 37
6. Caractères des acides gras 38
Recherches des ferments (diastases, enzymes) 41
I. Diastases des Hydrates de Carbone 42
1. Amylase 43
2. Glycogénase 43
3. Inulase 46
4. Invertase 47
5. Lactase 48
6. Glycolase 48
7. Nucléase 49
II. Les ferments des lapides 50
1. Lipase 51
2. Lécithase 52
3. Phosphatase 53
III. Les ferments des protides et leurs dérivés 54
1. Peptase 55
2. Tryptase 55
3. Ereptase 56
4. Uréase 57
5. Désamidase 58
6. Hippuricase 58
IV. Les oxydases, péroxydases et catalases 59
1. Oxydases .....
a) Aeroxydase 59
b) Hydroxydase 59
2. Péroxydases et catalases 61
V. Recherche du glutathion 62
VI. Conclusion 63
Recherches des protides 65
I. Recherches qualitatives 66
II. Recherches quantitatives 68
1. Destruction de matières organiques 68
2. Microdosage de l'azote 70
3. Microdosage de l'ammoniaque 71
4. Dosage des matières albuminoïdes 71
Recherches des glucides 73
Conclusions générales 77
Index bibliographique 81